

⑯ BUNDESREPUBLIK

DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

⑯ **Offenlegungsschrift**  
⑯ **DE 101 18 852 A 1**

⑯ Int. Cl. 5:  
**A 61 K 39/385**  
A 61 K 9/14  
A 61 K 9/26  
C 08 F 291/00

⑯ Aktenzeichen: 101 18 852.8  
⑯ Anmeldetag: 17. 4. 2001  
⑯ Offenlegungstag: 31. 10. 2002

⑯ Anmelder:  
Fricker, Gert, Prof. Dr., 79219 Staufen, DE; Flaig,  
Rüdiger Marcus, Dr., 69121 Heidelberg, DE

⑯ Vertreter:  
Patentanwaltskanzlei Liermann - Castell, 52349  
Düren

⑯ Erfinder:  
Erfinder wird später genannt werden  
⑯ Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht  
zu ziehende Druckschriften:

DE 198 59 059 A1  
DE 198 39 515 A1  
DE 198 10 965 A1  
US 61 17 454  
US 58 40 674  
US 57 70 079  
US 56 41 575  
US 48 10 385

Bibliodata Abstract, AN 96213007;

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

⑯ Bdellozomen

⑯ Die Erfindung betrifft solide Partikel zum Transport  
pharmazeutischer Wirkstoffe, Verfahren zu deren Herstel-  
lung, Arzneimittel, enthaltend diese Partikel, sowie die  
Verwendung dieser Partikel in verschiedenen ausgewähl-  
ten Indikationen.

BEST AVAILABLE COPY

DE 101 18 852 A 1

## Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft solide Partikel zum Transport pharmazeutischer Wirkstoffe, Verfahren zu deren Herstellung, Arzneimittel enthaltend diese Partikel sowie die Verwendung dieser Partikel in verschiedenen ausgewählten Indikationen.

[0002] Ein Hauptziel der pharmazeutischen Forschung ist es, die gewünschten Effekte bekannter Wirkstoffe zu verstärken und die systemischen Nebenwirkungen zu minimieren, was insbesondere bei Substanzen mit hoher intrinsischer und damit unvermeidlicher Toxizität (z. B. Cytostatika) von großer Bedeutung ist. Dies kann sowohl über Verringerung der für die therapeutische Wirkung benötigten Gesamtdosis als auch über Ansammlung der Effektoren am gewünschten Wirkort erreicht werden, was beides durch die kontrollierte, räumlich spezifische Freisetzung von Effektormolekülen im weitesten Sinn (Proteinen, Peptiden, Nukleinsäuren oder niedermolekularen Substanzen) im gewünschten Zielgewebe bewerkstelligt werden kann. Darunter ist insbesondere der spezifische Transfer von therapeutisch oder diagnostisch nutzbaren Substanzen in definierte biologische Ziele ("drug delivery", "drug targeting") zu verstehen, der ein wichtiges Ziel der gegenwärtigen pharmazeutischen Forschung ist.

[0003] Die heute verfügbare Antikörpertechnologie erlaubt die Erzeugung von hochaffinen Bindungspartnern für nahezu jede beliebige biologische Struktur; überdies sind zahlreiche natürliche Liganden für zelluläre Rezeptoren charakterisiert und kloniert worden, so daß es kein Problem mehr darstellt, Moleküle mit hoher und spezifischer Affinität zu den gewünschten Zielen zu erzeugen. In vielen Fällen sind auch niedermolekulare Liganden (z. B. Glykoside) bekannt, die auf chemischem Weg imitiert und somit zur Zielsteuerung verwendet werden können. Jedoch üben diese "Suchermoleküle", ob mikro- oder makromolekular, selber im allgemeinen keine pharmazeutisch nutzbare Funktion aus, während die Effektoren selbst nicht zielspezifisch sind. Ein Hauptaugenmerk muß daher darauf liegen, diese Trennung zu überbrücken und das therapeutische Potential der verfügbaren Effektoren mit der Zielspezifität der Suchermoleküle zu verbinden.

[0004] Der effizienteste bislang bekannte Ansatz zum Erreichen dieses Ziels besteht in der Verwendung von Trägerstrukturen im kolloidalen (d. h. Submikrometer-)Größenbereich, an deren Oberflächen entsprechende Zielsuchermoleküle gebunden werden können. Auf diese Weise werden sowohl optimales Verhältnis von Zielsucher- zu Effektormolekülen als auch maximale Flexibilität erreicht: Während durch direkte kovalente Kopplung an ein einzelnes Antikörper- oder anderes Ligandenmolekül nur wenige (< 10) Effektormoleküle gebunden werden können (was bei einem Molekulargewicht eines Antikörpers von rund 150 kDa bedeutet, daß über 90% der Masse des Konjugats auf den Antikörperteil entfallen) und Konjugate mit niedermolekularen Suchern üblicherweise ein molares Verhältnis von 1 : 1 aufweisen, ist mit kolloidalen Systemen ein Effektor : Zielsucher-Verhältnis von  $10^3$ – $10^4$  realisierbar. Überdies wird keine chemische Veränderung des Effektors benötigt, was in jeder Hinsicht vorteilhaft ist.

[0005] Eine effiziente Möglichkeit hierzu besteht darin, die betreffenden Substanzen in kolloidale Trägerpartikel einzulagern, welche mit Antikörpern gegen oder natürlichen Liganden für charakteristische Molekularstrukturen des Ziels verknüpft und zugleich durch inerte Beschichtung ihrer Oberfläche gegen das Immunsystem geschützt werden.

[0006] Eine vielverwendete Methode zur kolloidalen Verpackung von Pharmaka besteht darin, die Effektoren in lipidmembranumhüllte Vesikel (Liposomen) einzuschließen. Durch Verwendung entsprechender Membrankomponenten ist es möglich, zum einen die gewünschten Zielsuchermoleküle an die Liposomenmembranen zu binden, zum anderen die Träger mit antiimmunogenen Beschichtungen (z. B. Polyethylenglykol) zu überziehen und dadurch vor der unspezifischen Entfernung aus dem Blutstrom durch das retikuloendotheliale System zu schützen. Den Vorteilen dieses Systems stehen folgende gravierende Nachteile gegenüber:

- Die thermische und zeitliche Stabilität der aus einer einzelnen Lipiddoppelschicht bestehenden Vesikel ist begrenzt, ebenso die Dichtigkeit. Die Durchlässigkeit der Membranen für hydrophile Stoffe kann prinzipiell verringert werden, jedoch sind die benötigten veränderten (z. B. fluorierten) Lipide biologisch nicht unbedenklich. Überdies genügt ein einzelner "Treffer" des Komplementsystems zum Auslaufen eines vollständigen Vesikels.
- Die mangelnde Stabilität der Membranvesikel begrenzt ihrerseits die mögliche Variabilität in der Oberflächengestaltung und limitiert dadurch die potentiellen Anwendungen.
- Nur-hydrophile Substanzen können in der wäßrigen Innenphase der Vesikel in genügender Konzentration transportiert werden.
- Die Beladung der Liposomen erfolgt (von wenigen Spezialfällen abgesehen) durch einfachen Einschluß eines Teils der wäßrigen Phase und ist dementsprechend ineffizient: Typischerweise werden < 0,5% der Effektorsubstanz in die Vesikel eingeschlossen. Hierbei wird die Substanz beträchtlichen thermischen und chemischen Belastungen ausgesetzt (die Arbeitstemperatur muß für längere Zeit oberhalb der kritischen Phasenübergangstemperatur des Lipidgemisches liegen, und die für die kovalente Modifikation benötigten reaktiven Gruppen überstehen dies nur bei sehr niedrigem pH-Wert).
- Die Hälfte der membranständigen reaktiven Gruppen, die zur Verknüpfung mit proteinösen Suchmolekülen benötigt wird, befindet sich nach der Vesikelbildung auf der Innenseite und steht nicht zur Bindung zur Verfügung, wird jedoch nach der Auflösung der Liposomen im Organismus freigesetzt und kann zu unvorhersehbaren Reaktionen führen.
- Die chemische Kopplung von Proteinen an liposomale Membranen (z. B. über direkt oder über einen Polyethylenglykolsarm mit Lipiden verknüpftes SPDP) führt zur Bildung hochimmunogener Strukturen, die bereits zur Vakzinierung erfolgreich eingesetzt wurden, auf dem Gebiet des "drug targeting" jedoch als unbrauchbar angesehen werden müssen, da sie zu einer Immunreaktion gegen die Partikel führen.

[0007] Als Alternative stehen solide Kolloidpartikel ("Nanopartikel") zur Verfügung. Nanopartikel sind prinzipiell bekannt. Partikel im Mikrometer- und Submikrometerbereich aus hydrophoben Polymeren können prinzipiell durch feine Dispergierung des in einem unpolaren Lösungsmittel aufgenommenen Polymers produziert werden: Durch Entfernung des Lösungsmittels fällt das Polymer in Form von Partikeln, deren Durchmesser unter dem der Tröpfchen liegt, aus; eine

Beladung mit hydrophoben Substanzen (in welche Kategorie die meisten Pharmaka fallen) kann durch einfachen Zusatz der Substanz zum unpolaren Lösungsmittel bewerkstelligt werden: Nach Entfernen des Lösungsmittels liegt die Wirksubstanz zu annähernd 100% mit dem Polymer assoziiert vor und bleibt, wenn die Partikel in eine wässrige Phase eingebracht werden, durch Van-der-Waals-Kräfte und sterisches "Entrapment" nichtkovalent, aber längerfristig stabil an die Partikelmatrix gebunden. Essentiell ist hierbei, daß eine nachträgliche Koagulation der hydrophoben Partikel (deren große Kontaktfläche mit dem hydrophilen Medium energetisch ungünstig ist) verhindert wird. Bei aus dem Stand der Technik bekannten konventionellen Ansätzen geschieht dies meist durch Herstellung der Partikel in Anwesenheit einer amphiphilen Substanz, welche zwischen hydrophober Partikelmatrix und hydrophilem Medium vermittelt.

[0008] Konventionelle Nanopartikel und deren Herstellung und Möglichkeiten einer Oberflächenvariation sind aus der WO 96/20698 bekannt, wobei das System hier insbesondere für den intravaskulären Einsatz, insbesondere bei der Restenose optimiert wurde. Die Patentanmeldung beschreibt polymolekulare Nanopartikel aus natürlichen oder synthetischen Polykondensaten mit einem überwiegend allgemein beschriebenen eigenschaftsmodifizierenden Oberflächenüberzug aus natürlichen oder synthetischen Makromolekülen.

[0009] Beispielhaft seien weiter die folgenden Dokumente genannt.

[0010] Die DE 198 10 965 A1 beschreibt polymolekulare Nanopartikel aus einem Polyelektrolytkomplex aus Polykationen und Polyanionen, der mit einem Vernetzungsmittel behandelt wird.

[0011] Die US 6,117,454 beschreibt insbesondere polymolekulare Nanopartikel, die durch einen Überzug aus Fettsäurederivaten zum Durchdringen der Blut-Hirnschranke geeignet sind. Bei diesen von sich aus amphiphilen Liganden ist zu bedenken, daß zum einen hochaffine Liganden i. w. S. gegen biologische Strukturen (z. B. Proteine) i. a. nicht in einem Maßstab verfügbar sind, daß sie sich selbst bei Vorhandensein entsprechender physikalischer Eigenschaften (was z. B. auf Antikörper nicht zutrifft) zur unmittelbaren Oberflächenbeschichtung eignen (wofür mit der Partikelmatrix vergleichbare Mengen erforderlich sind), zum anderen selbst dort, wo dies möglich ist, von einem Einbringen solcher Massen hochaffin an biologischer Ziele bindender Moleküle, von denen zu erwarten ist, daß sie sich teilweise von den Partikeln ablösen und unabhängig davon an ihre Ziele binden, dringend abzuraten ist.

[0012] In der US 5,840,674 werden fest über einen "Linker" kovalent gebundene Komplexe aus Wirkstoff und Mikropartikel insbesondere zum Einsatz gegen Mikroorganismen beschrieben.

[0013] Die US 5,641,515 beschreibt polymolekulare Nanopartikel aus Polycyanacrylat enthaltend Insulin, die das komplexe gebundene Insulin kontrolliert freisetzen.

[0014] In der DE 198 39 515 A1 werden kolloidale Polymer-Wirkstoffassoziate mit einem eigenschaftsoptimierten verzweigten Polyolester zum Einsatz insbesondere an mucosalen Geweben beschrieben. Dabei wird ein polymeres Polyol, insbesondere Polyvinylalkohol, mit beispielsweise polykondensierenden Hydroxycarbonsäure verestert, so daß ausgehend vom Polyol-Rückgrat polykondensierte Seitenketten unterschiedlicher Länge und einer endständigen freien OH-Gruppe entstehen, mit dem Ziel, die Eigenschaften der Polyolester zu verändern. Die Tatsache, daß die Seitenketten der nach DE 198 39 515 A1 hergestellten Partikel ausschließlich in freien OH-Gruppen enden, ist sehr nachteilig, da OH-Gruppen in wässrigem oder alkoholischem Milieu nicht selektiv umzusetzen sind, so daß eine weitere Oberflächenmodifikation beispielsweise mit "Sucher"-Molekülen schwierig oder fast ausgeschlossen ist. Weiter ist für die Partikelbildung nach DE 198 39 515 ein Dispersionsschritt in einer wässrigen Phase zwingend nötig, so daß nach diesem Verfahren hergestellte Partikel nicht weiter zu modifizieren sind. Insbesondere verfügen aber die Partikel nach DE 198 39 515 auch nicht über eine ausreichend gesteuerte klar definierte Struktur, da keine Moleküle zugesetzt werden, über die definiert die Länge der Seitenketten durch Kettenabbruchsreaktion zu steuern sind und auch keine zur weiteren Modifikation günstigen Gruppen in die Oberfläche des Moleküls eingeführt werden. Auch ist das Herstellungsverfahren des Polymers u. a. wegen der endständigen OH-Gruppen wesentlich aufwendiger und (infolge des Einflusses zahlreicher Verfahrensparameter) weniger robust und führt auch zu einem weniger strukturierten Polymer, welches nicht zur selbsttätigen Bildung monomolekularer Partikel imstande ist, sondern "durch kontrollierte Fällung in kolloidale Form" überführt wird. Den resultierenden "kolloidalen Assoziaten" ermangelt es infolge des Fehlens von definierten Schlüßstücken der chemisch vom Rest des Partikels verschiedenen, wiewohl kovalent damit verbundenen Oberflächenschicht, mit der eben eine definierte Oberflächenmodifikation ausgeführt werden kann. Insgesamt sind die Partikel nach DE 198 39 515 mithin für einen Einsatz auf dem Gebiet des "Drug Targeting" insbesondere durch Oberflächenmodifikation im Sinne dieser Erfindung ungeeignet und sind lediglich als "sustained release"-Formulierungen anwendbar.

[0015] Im Stand der Technik ist damit insgesamt das Problem der gezielten Applikation des Wirkstoffes am gewünschten Wirkort und der Stabilität der Nanopartikel nach Gabe bis zum Erreichen des Wirkortes, das "Drug Targeting", nur unzureichend gelöst. Ein zentrales Problem besteht in der Oberflächenmodifikation von Nanopartikeln. Wie oben bereits angeführt, stellen konventionelle solid-nanopartikuläre Systeme (im Gegensatz zu Liposomen) aufgrund ihrer extrem hohen spezifischen Interphase zwischen hydrophober Partikelmatrix und hydrophilem Medium ein energetisch ungünstiges System dar, das in Abwesenheit von Stabilisatoren instabil ist. Durch Zusammenlagerung von Partikeln wird die energetisch ungünstige Berührungsfläche minimiert, eine Ausfällung des hydrophoben Partikelmaterials ist die Folge.

[0016] Aus diesem Grund benötigen konventionelle Nanopartikel einen Überzug, beispielsweise aus amphiphilen Molekülen, die die Grenzflächenenergie herabsetzen und auf diese Weise die Partikel stabilisieren. Dieser Überzug deckt die Partikelmatrix vollständig ab und entzieht sie so dem Zugang modifizierender Agentien. Eine Modifikation gerade der amphiphilen Moleküle führt aher andererseits zu einer drastischen Veränderung der physikalischen Eigenschaften und damit zu einer Destabilisierung des Überzugs. Aus diesem Grund ist es kaum möglich, konventionelle Nanopartikel so zu modifizieren, daß Bindung von Liganden und damit ein Einsatz im Gebiet des "drug targeting" möglich ist, was wie bereits ausgeführt auch auf die DE 198 39 515 zutrifft.

[0017] Neben der Überwindung der genannten Nachteile des Standes der Technik war es Aufgabe der Erfindung, Nanopartikel zur Verfügung zu stellen, die

- (a) durch "steric entrapment" eine große Bandbreite von Wirkstoffen transportieren können,
- (b) einfach und stabil oberflächenmodifiziert werden können, und dabei insgesamt

# DE 101 18 852 A 1

(c) definierte und geeignete chemische Gruppen an der Oberfläche zeigen oder leicht damit hergestellt werden können und  
(d) eine definierte Größe und insbesondere Form und Oberfläche des Moleküls zeigen

5 und insbesondere in der Lage sind, eine spezifische Freisetzung am Wirkort zu erreichen.  
[0018] Die Lösung dieser Aufgabe wird durch solide Partikel zum Transport hydrophober pharmazeutischer Wirkstoffe erreicht, die

10 a) ein unverzweigtes oder maximal dreimal verzweigtes Molekülrückgrat aus einem aus Monomeren aufgebauten Polymer mit mindestens einer Bindungsgruppe (x) an jedem Monomer, wobei an die Bindungsgruppen (x) jeweils kovalent über eine (x)-(x')-Bindung  
15 b) polykondensierte Molekülseitenketten aufgebaut aus kettenbildenden Monomeren mit jeweils mindestens einer Bindungsgruppe (y) und mindestens einer Bindungsgruppe (x') oder aufgebaut aus verschiedenen kettenbildenden Monomeren, wovon ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y) und ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') aufweist, oder aufgebaut aus verschiedenen kettenbildenden Monomeren, wovon ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y), ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') und ein weiteres mindestens eine Bindungsgruppe (y) und mindestens eine Bindungsgruppe (x') aufweist, wobei (x') eine kovalente Bindung mit (x) und auch eine kovalente Bindung mit (y) eingehen kann, binden, wobei jeweils am Ende der Molekülseitenketten kovalent über eine (y)-(y')-Bindung  
20 c) Seitenkettenendstücke, die mindestens eine Bindungsgruppe (y'), keine Bindungsgruppe (y) und mindestens eine gegebenenfalls mit einer Schutzgruppe versehene freie Gruppe (z) aufweisen, gebunden sind,

wobei

25 - das molare Verhältnis zwischen den Monomeren der Molekülseitenketten (b) und den Seitenkettenendstücken (c) << 1 ist,  
- die Gruppe y ≠ der Gruppe z und die Gruppe x' ≠ der Gruppe z ist,  
- das molare Verhältnis zwischen den Monomeren des Molekülrückgrats und den Seitenkettenendstücken (c) etwa äquimolar ist,  
30 - x, x', y und y' unabhängig voneinander ausgewählt sind aus OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> unter der Bedingung, daß x/x', x'/y bzw. y/y' entsprechende Bindungspaare x/x', x'/y bzw. y/y' (mit der entsprechenden Bindung) ausgewählt aus OH/COOH (Ester-Bindung -O-C(O)-), NH<sub>2</sub>/COOH (Amid-Bindung -NH-C(O)-), SH/COOH (Thio-Ester-Bindung -S-C(O)-), COOH/OH (Ester-Bindung -O-C(O)-), COOH/NH<sub>2</sub> (Amid-Bindung -NH-C(O)-) oder COOH/SH (Thio-Ester-Bindung -S-C(O)-) bilden und  
35 - z ausgewählt ist aus CH<sub>3</sub>, OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> sowie der Vinyl- oder Epoxy-Gruppe gegebenenfalls geschützt durch eine Schutzgruppe,

enthalten.

[0019] Schutzgruppen für bestimmte funktionelle Reste sowie deren Entfernung sind dem Fachmann hinlänglich bekannt. Mögliche Schutzgruppen wären beispielsweise FMOC zum Schutz einer Aminofunktion, wobei dabei die Entfernung durch Behandlung mit katalytischen Mengen von Piperidin erfolgt.

[0020] Die erfindungsgemäßen Partikel sind besonders geeignete Formen, mit denen eine Verstärkung der Wirkung und Minimierung der Nebenwirkungen durch die kontrollierte und/oder räumlich spezifische Freisetzung des Effektormoleküls erreicht wird. Generell handelt es sich bei den von der Erfindung umfaßten Partikeln vorzugsweise um solide, kolloidale und/oder lipide Partikelsysteme.

[0021] Ein besondere Vorteil der erfindungsgemäßen Gruppen ist, daß durch das Vorhandensein sonst im Polymerpartikel nicht zu findender funktionaler Gruppen, insbesondere Aminogruppen, die Oberflächenschicht so ausgebildet ist, daß

50 - die Partikel mit einer durch die Ladung dieser funktionalen Gruppen bedingten polaren Zone ummantelt werden, deren Ladung der Flocculation entgegenwirkt und dadurch die Partikelsuspension stabilisiert, und  
- funktionale Gruppen (insbesondere, jedoch nicht zwingenderweise ausschließlich, Aminogruppen), die zum Anfügen von Oberflächenmodifikationen nach der Bildung der mit der Substanz von Interesse beladenen Partikel geeignet sind, bereitgestellt werden.

55 [0022] Weiter sind funktionale Gruppen an der Oberfläche gezielt je nach Aufgabe über die Seitenkettenendstücke problemlos wählbar und das Herstellungsverfahren für die erfindungsgemäßen Verbindungen ist einfach und robust.

[0023] Außerdem ist Größe, Form und Oberfläche des Moleküls steuerbar klar definiert, da die Wahl der molaren Verhältnisse hier Eingriffe erlauben.

60 [0024] Weiter sind die Partikel durch die polymeren Seitenketten ausgezeichnet in der Lage, durch "steric entrapment" große Mengen an verschiedensten Wirkstoffen unterschiedlicher chemischer Eigenschaften zu binden und zu transportieren.

[0025] Gegenstand der Erfindung sind unter anderem auch solide Partikel zum Transport amphi- oder lipophiler Wirkstoffe bzw. hydrophober Resorptionsester hydrophiler Wirkstoffe enthaltend ein Molekül eines verzweigten Polykondensats, wobei das Polykondensat aus einem Rückgrat aus einem multifunktionalen, vorzugsweise unverzweigten oder wenig verzweigten, Makromolekül, bevorzugt Polyvinylalkohol, besteht, dessen funktionelle Gruppen (im Fall von Polyvinylalkohol also die OH-Gruppen) mit sekundären, vorzugsweise ebenfalls unverzweigten oder wenig verzweigten, Polykondensatketten kovalent verbunden sind, welche im Folgenden als Seitenketten bezeichneten sekundären Polykon-

# DE 101 18 852 A 1

densatketten aus verknüpften bifunktionalen organischen Monomeren (wobei es sich bei den Monomeren um heterobifunktionale Moleküle bzw. ihre Derivate handeln kann oder um ein äquimolares Gemisch zweier homobifunktionaler Moleküle bzw. ihrer Derivate), bevorzugt aus veresterten Hydroxycarbonsäuren oder einer Kombination aus Diolen und Dicarbonsäuren im molaren Verhältnis 1 : 1 bestehen, wobei das Ende jeder dieser Ketten aus einem im Sinne der Kondensationsreaktion monofunktionalen Molekül, bevorzugt einer Nichthydroxycarbonsäure, besteht.

[0026] In Abb. 2a ist exemplarisch die Bildung und Struktur eines allgemeinen Polykondensates aus einem unverzweigten, multifunktionalen Rückgrat, einem heterobifunktionalen Seitenkettenmonomer und einem zu dieser Kombination passenden Endstück schematisch dargestellt. Selbstverständlich ist auch die Kombination mehrerer Monomertypen und/oder Endstücke in einer einzelnen Synthesereaktion möglich. Im Folgenden wird ein solches Polykondensat mit unverzweigtem Rückgrat und nicht oder wenig verzweigten Seitenketten aufgrund seiner Form als Ktenat bezeichnet werden (gr. κτείς = Kamm).

[0027] Hierbei können in die Bildung der Seitenketten jeweils die ursprünglichen Monomere eingesetzt werden, welche bei der Kondensationsreaktion Wasser abspalten, oder ihre intramolekularen Anhydride, Lactone etc. oder andere Derivate. Eine Verwendung von "vorgefertigten" Oligomeren mit im Sinne der Kondensationsreaktion frei verfügbaren funktionellen Gruppen (z. B. Oligopeptiden) allein oder in beliebigen Kombinationen mit homo- oder heterobifunktionalen Monomeren ist ebenfalls möglich; solche vorgefertigten Bausteine werden nachfolgend ebenfalls unter die Bezeichnung "Monomere" subsumiert werden.

[0028] Nachfolgend sind ohne Anspruch auf Vollständigkeit einige Beispiele für im Sinne der Erfindung verwendbaren Substanzen und Kombinationen aufgelistet:

## Rückgrat

Name	Grundstruktur	Funktionelle Gruppe
Polyvinylalkohol	$H_2(CH_2-CHOH)_n$	-OH
Polyacrylsäure	$H_2(CH_2-CHCOOH)_n$	-COOH
Polyvinylamin	$H_2(CH_2-CHNH_2)_n$	-NH <sub>2</sub>
Polysaccharide	versch.	-OH
Polyaminosäuren	versch.	versch.

5	Name	Grundstruktur	Geeignetes Rückgrat
10	Hydroxycarbonsäuren	HOOC-X-OH	Polyvinylalkohol, Polyacrylat, Polysaccharide, Polyamine
15	Diole + Dicarbonsäuren	HO-X-OH + HOOC-Y-COOH	Polyvinylalkohol, Polyacrylat, Polysaccharide, Polyamine
20	Aminosäuren	HOOC-X-NH2	Polyamine, Polyacrylat
25	Diamine + Dicarbon- säuren	H2N-X-NH2+ HOOC-Y-COOH	Polyamine, Polyacrylat
30			

## Endstücke

35	Name	Grundstruktur	entschützte Schluß- gruppe	Beispiel
40				
45	N-geschützte Amino- säuren	HOOC-X-NH- Ω	-NH2	N-FMOC-Alanin
50	COOH-geschützte	H2N-X-COO-	-COOH	Ω-Alanin

55

60

65

Aminosäuren	$\Omega$		
N-geschützte Amino-alkohole	HO-X-NH- $\Omega$	-NH2	N-FMOC-Colamin
O-geschützte Amino-alkohole	H2N-X-O- $\Omega$	-OH	O- $\Omega$ -Colamin
S-geschützte Thioalkohole	HO-X-S- $\Omega$	-SH	S- $\Omega$ - $\beta$ -Mercaptoethanol
S-geschützte Thiolsäuren	HOOC-X-S- $\Omega$	-SH	S- $\Omega$ -Thioglykolsäure

(X und Y: beliebige Molekülcorpora;  $\Omega$  = Schutzgruppe)

[0029] Die Auswahl der Endstücke hängt hierbei von folgenden Faktoren ab:  
gewünschte exponierte Gruppe(n) (diese ist bzw. sind vor der Synthese mit einer geeigneten Schutzgruppe zu versehen, um eine Einbeziehung in den Polykondensationsprozeß zu verhindern), Seitenkettenmonomer(e),

Rückgratmolekül (definiert durch seine funktionellen Gruppen die Orientierung der Seitenketten).

[0030] Diese Seitenketten werden generell als Telo-Endstück-Poly-Monomer bezeichnet (also Telo-Alanyl-Polylaktid oder Entsprechendes), das Gesamt-Molekül daher als Rückgrat<sub>Molekulargewicht-telo{freie Gruppe}</sub>Endmolekül daher als Rückgrat<sub>Molekulargewicht-telo{freie Gruppe}</sub>Endstück-Poly-Monomer<sub>mittleres Seitenketten-Gewicht</sub>at, also z. B. Polyvinyl200'000-telo{amino}alanyl-polylaktid<sub>5000</sub>at, Polyacryl50'000-telo{amino,sulphhydro}cystein-poly(glykol:adipin)8000at (oder entsprechend).

[0031] Ein Überblick über einige ausgewählte Möglichkeiten sei in der folgenden Tabelle gegeben, in der zugleich auch Trivialnamen für einige der interessantesten Grundstrukturen vorgeschlagen werden:

Rückgrat	Seitenketten- material	Endstücke	domi- nante Bin- dung	entschützte Oberflächen- gruppe	Trivial- name
Polyvinyl- alkohol o- der andere Poly- hydroxy- verbin- dungen	Hydroxy- carbonsäuren oder Dicarbonsäuren und Diole 1:1	N-geschützte Aminosäuren  N- und se- kundär COOH- geschützte Aminodisäu- ren	Ester	-NH2  -NH2, COOH	Reguläres Ktenat  Saures reguläres Ktenat

35

40

45

50

55

60

65

		N-geschützte Diaminosäu- ren		-NH2, NH3+	Basisches reguläres Ktenat	
	Thiohydroxy- carbonsäuren	N-geschützte Aminosäuren	Ester, Disul- fid	-NH2	Oxydativ ver- netzbares Ktenat	
	Hydroxy- carbonsäuren oder Dicarbonsäuren und Diole 1:1	S-geschützte Thiocarbonsä- uren	Ester	-SH	Thiokte- nat	
	Polyacryl- säure und andere makromo- lekulare	Hydroxy- carbonsäuren oder Dicarbonsäuren und Diole 1:1	N-geschützte Amino- alkohole	Ester	-NH2	Inverses Ktenat

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

5	Polysäuren	Aminosäuren oder Dicarbonsäuren und Diamine 1:1	N-geschützte Aminosäuren	Peptid	Inverses Amido- ktenat		
		Cystein		Peptid, Disul- fid	Vernetz- bares in- verses Amido- Ktenat		
		Hydroxy- carbonsäuren oder Dicarbonsäuren und Diole 1:1	S-geschützte Thioalkohole	Ester	-SH	Inverses Thio- Ktenat	
		makro- molekulare Polyamine	Aminosäuren oder Dicarbonsäuren und Diamine 1:1	S-geschützte Thioamine	Peptid	-SH	Thioamid o-Ktenat
				partiell ge- schützte Dia- mine		-NH2	Amidok- tenat
55			COOH- und S-geschütztes Cystein		-SH, -COOH	Saures Amidok- tenat	
60							

[0032] Alle diese Möglichkeiten sind unabhängig von der Art und Orientierung der die Partikelmatrix dominierenden Bindungsstruktur Gegenstand dieser Erfindung, da sie alle in der gleichen langgestreckten, durch kovalente Bindungen zusammengehaltenen Partikelform und -struktur mit hydrophobem Kern und funktionalisierter, hydrophiler Außenschicht resultieren, welche nachfolgend als "Bdellosom" (griech. bdella = Egel) bezeichnet wird und die eingangs beschriebenen Anforderungen erfüllt.

# DE 101 18 852 A 1

[0033] Daher wird nachfolgend exemplarisch nur Synthese und Verwendung von regulärem Milchsäure-Alanin-Ktenat (exakte Bezeichnung gemäß obiger Nomenklatur: Polyvinyl-telo{amino}alanyl-polylaktidat) dargestellt werden, da die anderen Grundstrukturen nicht zu wesentlich verschiedenen Partikeln führen.

[0034] Die in der Auflistung beschriebenen Polymere besitzen unterschiedliche Eignungen je nach Zielsetzung; so können z. B. aminohaltige, aber thiolfreie Suchermoleküle unter geringer Variation des Protokolls (zuerst Verknüpfung von Sucher und Linker, dann Reaktion der Partikel mit dem Sucher-Linker-Komplex) mittels des gebräuchlichen, hierbei jedoch umgekehrt orientierten NHS-Ester-PEG-Vinylsulfon-Linkers an Partikel aus Thioktenat, inversem Thioktenat oder Thionimidoktenat angekoppelt werden.

[0035] Dabei ist es besonders bevorzugt, wenn die erfindungsgemäßen Partikel nichtkovalent gebundenen, hydrophoben oder hydrophobisierten pharmazeutischen Wirkstoff enthalten.

[0036] Dabei versteht man unter hydrophobisierten Wirkstoffen, ursprünglich hydrophilere Wirkstoffe, die durch chemische Modifikation hydrophober geworden sind. Ein Beispiel sind hydrophobe Resorptionsester hydrophiler Wirkstoffe.

[0037] Ein weiterer bevorzugter Gegenstand der Erfindung, der auch die Aufgabe löst und die genannten bevorzugten Eigenschaften aufweist, sind monomolekulare solide Partikel zum Transport hydrophober oder hydrophobisierter Wirkstoffe, die nach einem Verfahren herstellbar sind, in dem unverzweigtes oder maximal dreimal verzweigtes Polymerrückgrat aufgebaut aus Monomeren mit jeweils mindestens einer Bindungsgruppe (x) an jedem Monomer mit

- (a) kettenbildenden Seitenketten-Monomeren mit jeweils mindestens einer Bindungsgruppe (y) und mindestens einer Bindungsgruppe (x'), wobei (x') sowohl eine kovalente Bindung mit (x) als auch mit (y) eingehen kann,
- (b) einer Mischung aus kettenbildenden Seitenketten-Monomeren, wovon mindestens ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y) und mindestens ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') aufweist, wobei (x') sowohl eine kovalente Bindung mit (x) als auch mit (y) eingehen kann, oder
- (c) einer Mischung aus kettenbildenden Seitenketten-Monomeren, wovon mindestens ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y), mindestens ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') und mindestens ein weiteres Monomer mindestens eine Bindungsgruppe (y) und mindestens eine Bindungsgruppe (x') aufweist, wobei (x') sowohl eine kovalente Bindung mit (x) als auch mit (y) eingehen kann,

sowie mindestens einem Seitenkettenendstück, mit mindestens einer Bindungsgruppe (y'), ohne Bindungsgruppe (y) und mit mindestens einer gegebenenfalls mit einer Schutzgruppe versehenen freien Gruppe (z), wobei (y') eine kovalente Bindung mit (y) eingehen kann,

unter Bedingungen, die eine Bindung zwischen den Monomeren bzw. Monomeren-Gemischen der Seitenketten und dem Polymerrückgrat sowie den Kettenendstücken und auch eine Polykondensation der Monomeren bzw. Monomeren-Gemischen der Seitenketten erlauben, in Kontakt gebracht wird,

wobei

- das molare Verhältnis zwischen den Monomeren der Molekülseitenketten (b) und den Seitenkettenendstücken (c) << 1 ist,
- die Gruppe y ≠ der Gruppe z und die Gruppe x' ≠ der Gruppe z ist,
- das molare Verhältnis zwischen den Monomeren des Molekülrückgrats und den Seitenkettenendstücken (c) etwa äquimolar ist,
- x, x', y und y' unabhängig voneinander ausgewählt sind aus OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> unter der Bedingung, daß x/x', x'/y bzw. y/y' entsprechende Bindungspaare x/x', x'/y bzw. y/y' (mit der entsprechenden Bindung) ausgewählt aus OH/COOH (Ester-Bindung -O-C(O)-), NH<sub>2</sub>/COOH (Amid-Bindung -NH-C(O)-), SH/COOH (Thio-Ester-Bindung -S-C(O)-), COOH/OH (Ester-Bindung -O-C(O)-), COOH/NH<sub>2</sub> (Amid-Bindung -NH-C(O)-) oder COOH/SH (Thio-Ester-Bindung -S-C(O)-) bilden,
- z ausgewählt ist aus CH<sub>3</sub>, OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> sowie der Vinyl- oder Epoxy-Gruppe gegebenenfalls geschützt durch eine Schutzgruppe und
- die Seitenketten-Monomere als reine Monomere oder Derivate wie intramolekulare Anhydride oder Lactone eingesetzt werden können, solange sie noch mit sich und/oder anderen Seitenketten-Monomeren Ketten bilden können.

[0038] Ein ebenfalls weiterer bevorzugter Gegenstand der Erfindung, der auch die Aufgabe löst und die genannten bevorzugten Eigenschaften aufweist, sind monomolekulare solide Partikel zum Transport hydrophober oder hydrophobisierter Wirkstoffe, die nach einem Verfahren herstellbar sind, in dem unverzweigtes oder maximal dreimal verzweigtes Polymerrückgrat aufgebaut aus Monomeren mit jeweils mindestens einer Bindungsgruppe (x) an jedem Monomer mit polykondensierten Molekülseitenketten aufgebaut aus Monomeren mit jeweils mindestens einer Bindungsgruppe (y) und mindestens einer Bindungsgruppe (x') oder aufgebaut aus verschiedenen Monomeren, wovon ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y) und ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') aufweist, oder aufgebaut aus verschiedenen Monomeren, wovon ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y), ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') und ein weiteres mindestens eine Bindungsgruppe (y) und mindestens eine Bindungsgruppe (x') aufweist, wobei (x') eine kovalente Bindung sowohl mit (x) als auch mit (y) eingehen kann, wobei jeweils am Ende der Molekülseitenketten kovalent über eine (y)-(y)-Bindung Seitenkettenendstücke, die mindestens eine Bindungsgruppe (y'), keine Bindungsgruppe (y) und mindestens eine gegebenenfalls mit einer Schutzgruppe versehene freie Gruppe (z) aufweisen, wobei (y') eine kovalente Bindung mit (y) eingehen kann, gebunden sind,

unter Bedingungen, die eine Bindung zwischen den polykondensierten Molekülseitenketten und dem Polymer erlauben, in Kontakt gebracht wird,

wobei

das molare Verhältnis zwischen den Monomeren der Molekülseitenketten (b) und den Seitenkettenendstücken (c) << 1

ist,

die Gruppe  $y \neq$  der Gruppe  $z$  und die Gruppe  $x' \neq$  der Gruppe  $z$  ist,  
das molare Verhältnis zwischen den Monomeren des Molekülrückgrats und den Seitenkettenendstücken (c) etwa äquimolar ist,

5 x,  $x'$ , y und  $y'$  unabhängig voneinander ausgewählt sind aus OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> unter der Bedingung, daß  $x/x'$ ,  $x'/y$  bzw.  $y/y'$  entsprechende Bindungspaare  $x/x'$ ,  $x'/y$  bzw.  $y/y'$  (mit der entsprechenden Bindung) ausgewählt aus OH/COOH (Ester-Bindung -O-C(O)-), NH<sub>2</sub>/COOH (Amid-Bindung -NH-C(O)-), SH/COOH (Thio-Ester-Bindung -S-C(O)-), COOH/OH (Ester-Bindung -O-C(O)-), COOH/NH<sub>2</sub> (Amid-Bindung -NH-C(O)-) oder COOH/SH (Thio-Ester-Bindung -S-C(O)-) bilden und

10 z ausgewählt ist aus CH<sub>3</sub>, OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> sowie der Vinyl- oder Epoxy-Gruppe gegebenenfalls geschützt durch eine Schutzgruppe.

[0039] Dabei werden beispielsweise die freien OH-Gruppen des Polyvinylalkohol-Rückgrates mit der Polykondensate bildenden Hydroxycarbonsäure verestert, während die Nichthydroxycarbonsäure als Endstück dieser kurzen Seitenketten dienen. Dabei ist die Funktion der Nichthydroxycarbonsäure denen der Radikalfänger bei radikalischen Polymersationsreaktionen analog.

[0040] Dabei ist es bevorzugt, daß das Inkontaktbringen in einem wasserfreien organischen Lösungsmittel, vorzugsweise Pyridin stattfindet, wobei es auch günstig und eine bevorzugte Ausführungsform der Verfahren ist, wenn das Inkontaktbringen in Gegenwart von Thionylchlorid stattfindet und/oder – sofern notwendig – beispielsweise nach der Umsetzung mit Thionylchlorid gegebenenfalls Schutzgruppen abgespalten werden. Schutzgruppen für bestimmte funktionelle Reste sowie deren Entfernung sind dem Fachmann hinlänglich bekannt. Mögliche Schutzgruppen wären beispielsweise FMO<sub>C</sub> zum Schutz einer Aminofunktion, wobei die Entfernung durch Behandlung mit katalytischen Mengen von Piperidin erfolgt.

[0041] Üblicherweise schließt sich entweder der Schutzgruppenabspaltung oder – wenn diese nicht nötig ist – direkt beispielsweise nach der Umsetzung mit Thionylchlorid ein Waschschritt, vorzugsweise mit Dichlormethan, aber natürlich auch mit anderen wasserfreien – meist unpolaren – organischen Lösungsmitteln, an.

[0042] Die entstandenen Partikel werden zum Einsatz mit dem zu transportierenden hydrophoben pharmazeutischen Wirkstoff beladen. Daher schließt sich dann ein weiterer Verfahrensschritt an, bei dem das Produkt anschließend zusammen mit dem zu transportierenden hydrophoben oder hydrophobisierten pharmazeutischen Wirkstoff in einem wasserfreien organischen Lösungsmittel gelöst wird, dann die Lösung einige Zeit, vorzugsweise über Nacht, vorzugsweise bei Raumtemperatur, inkubiert wird, dann die Lösung mit Wasser gesättigt wird und anschließend die wassergesättigte Lösung in einem größeren Volumen Wasser gelöst wird, sich gegebenenfalls eine mechanische Behandlung anschließt (vorzugsweise nicht durch Ultraschall) und dann gegebenenfalls die Partikel gereinigt und isoliert werden.

[0043] Eine solche Behandlung ist aber meist nicht nötig, und es ist im Rahmen dieser Erfindung auch bevorzugt, wenn sich nach der Lösung der wassergesättigten Lösung in einem größeren Volumen Wasser keine mechanische Behandlung anschließt.

[0044] Zur abschließenden Reinigung (und Isolierung) wird vorzugsweise – sofern dies in diesem Verfahrensstadium notwendig ist – auf die Dialyse zurückgegriffen.

[0045] Bei der Wahl des Lösungsmittels für den Schritt zur Beladung mit Wirkstoff ist es bevorzugt, wenn das wasserfreie organische Lösungsmittel sich in Wasser im Verhältnis Lösungsmittel : Wasser zwischen 1 : 10 und 1 : 50, vorzugsweise zwischen 1 : 20 und 1 : 40, insbesondere zwischen 1 : 20 und 1 : 30 löst, und/oder vorzugsweise ausgewählt ist aus:

Methylenchlorid oder Benzylalkohol, vorzugsweise Benzylalkohol.

[0046] Darauf muß die Auswahl aber nicht beschränkt sein, solange ein gewisses definiertes Maß an Wasserlöslichkeit gegeben ist.

45 [0047] Es ist besonders bevorzugt, wenn bei den erfindungsgemäßen Partikeln das Polymerrückgrat unverzweigt oder maximal einmal verzweigt, vorzugsweise unverzweigt ist.

[0048] Auf besonders bevorzugte Ausführungsformen der erfindungsgemäßen Partikel treffen alternativ einzeln, teilweise oder insgesamt die folgenden Bedingungen zu, daß nämlich:

50 die Monomere der Seitenkette jeweils maximal zwei Gruppen (y) und maximal zwei Gruppen (x') aufweisen und/oder die Gruppe (y) in den Monomeren der Seitenkette der Gruppe (x) im Polymer-Rückgrat entspricht und/oder die Gruppe (x') in den Monomeren der Seitenkette der Gruppe (y') im Seitenketten-Endstück entspricht und/oder die Gruppe (z) ausgewählt ist aus den "freien Gruppen" OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> sowie der Vinyl- oder Epoxy-Gruppe gegebenenfalls geschützt durch eine Schutzgruppe.

55 die Monomere der Seitenkette jeweils maximal 2 bis 10 C-Atome, vorzugsweise 2 bis 6 C-Atome, insbesondere 2 bis 4 C-Atome, aufweisen und/oder

die Monomere der Seitenkette, die sowohl die Gruppe (y) als auch die Gruppe (x') aufweisen, entweder nur 1 Gruppe (y) und 1–2, vorzugsweise 1, Gruppen (x') oder nur 1 Gruppe (x') und 1–2, vorzugsweise 1, Gruppen (y) aufweisen und/oder die Monomere der Seitenketten bis auf das Seitenkettenendstück identisch sind mit jeweils 1 Gruppe (y) und 1 Gruppe (x') oder die Monomere der Seitenketten bis auf das Seitenkettenendstück identisch monoton alternierend aufgebaut sind aus abwechselnd einem Monomer mit 2 Gruppen (x') und einem Monomer mit 2 Gruppen (y).

[0049] Dabei ist u. a. der Begriff der "freien Gruppen" als Definition für die Gruppe (z) als ausgewählt aus OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> sowie der Vinyl- oder Epoxy-Gruppe gegebenenfalls geschützt durch eine Schutzgruppe, eine feststehende Definition im Sinne dieser Erfindung.

[0050] Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Partikel ist das Polymerückgrat ausgewählt aus

Polyvinylalkohol, Polyacrylsäure, Polyvinylamin, Polysaccharid oder Polyaminosäure, vorzugsweise Polyvinylalkohol oder Polyacrylsäure, insbesondere Polyvinylalkohol.

[0051] Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Partikel sind die Monomere der Seitenkette ausgewählt aus

Hydroxycarbonsäuren, Aminosäuren, der Kombination aus Diaminen und Dicarbonsäuren oder der Kombination aus Diolen und Dicarbonsäuren, bzw. deren Derivaten,

vorzugsweise Hydroxycarbonsäuren oder der Kombination aus Diolen und Dicarbonsäuren, bzw. deren Derivaten, insbesondere Hydroxycarbonsäuren wie Milchsäure, Glykolsäure, Weinsäure oder Zitronensäure bzw. deren Derivaten.

[0052] Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Partikel sind die Seitenkettenendstücke ausgewählt aus

ungeschützten Aminosäuren, N-geschützten Aminosäuren, COOH-geschützten Aminosäuren, ungeschützten Aminoalkoholen, N-geschützten Aminoalkoholen, O-geschützten Aminoalkoholen, ungeschützten Thiolalkoholen, O-geschützten Thioalkoholen, S-geschützten Thioalkoholen oder ungeschützten Thiolsäuren, S-geschützten Thiolsäuren, COOII-geschützten Thiolsäuren, ungeschützten Thioaminen, S-geschützten Thioaminen oder N-geschützten Thioaminen, vorzugsweise

ungeschützten Aminosäuren, N-geschützten Aminosäuren, ungeschützten Aminoalkoholen, N-geschützten Aminoalkoholen, ungeschützten Thiolalkoholen, S-geschützten Thioalkoholen oder ungeschützten Thiolsäuren, S-geschützten Thiolsäuren, insbesondere

ungeschützten Aminosäuren, wie Alanin, N-geschützten Aminosäuren, wie N-FMOC- $\beta$ -Alanin, ungeschützten Thiolsäuren oder S-geschützten Thiolsäuren.

[0053] Dabei versteht man unter "A-geschützt" im Sinne dieser Erfindung, daß eine funktionelle Gruppe "A" mit einer Schutzgruppe versehen ist.

[0054] Bei einer besonders ausgewählt bevorzugten Ausführungsform der erfindungsgemäßen Partikel sind das Polymerrückgrat, die Monomere der Seitenkette bzw. deren Derivate und das Seitenkettenendstück bzw. dessen Derivate ausgewählt aus einer der folgenden Kombinationen:

<b>Komb.-Nr.</b>	<b>Polymerrückgrat</b>	<b>Monomere der Seitenkette bzw. Derivat</b>	<b>Seitenketten-Endstück bzw. Derivat</b>
1	Polyvinylalkohol	Hydroxycarbonsäure	Ungeschützte Aminosäure
2	Polyvinylalkohol	Hydroxycarbonsäure	N-geschützte Aminosäure
3	Polyvinylalkohol	Hydroxycarbonsäuren	Ungeschützte Thiolsäure
4	Polyvinylalkohol	Hydroxycarbonsäuren	S-geschützte Thiolsäure
5	Polyvinylalkohol	Kombination aus Diol und Dicarbon-	Ungeschützte Aminosäure

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

		säure	
6	Polyvinylalkohol	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	N-geschützte Ami- nosäure
7	Polyvinylalkohol	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	Ungeschützte Thiol- säure
8	Polyvinylalkohol	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	S-geschützte Thiol- säure
9	Polyvinylalkohol	Aminosäure	Ungeschützte Thiol- säure
10	Polyvinylalkohol	Aminosäure	S-geschützte Thiol- säure
11	Polyvinylalkohol	Kombination aus Diamin und Dicar- bonsäure	Ungeschützte Thiol- säure
12	Polyvinylalkohol	Kombination aus Diamin und Dicar- bonsäure	S-geschützte Thiol- säure

13	Polyacrylsäure	Hydroxycarbonsäure	Ungeschützter Ami- noalkohol	5
14	Polyacrylsäure	Hydroxycarbonsäure	N-geschützter Ami- noalkohol	10
15	Polyacrylsäure	Hydroxycarbonsäure	Ungeschützter Thio- alkohol	15
16	Polyacrylsäure	Hydroxycarbonsäure	S-geschützter Thio- alkohol	20
17	Polyacrylsäure	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	Ungeschützter Ami- noalkohol	25
18	Polyacrylsäure	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	N-geschützter Ami- noalkohol	30
19	Polyacrylsäure	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	Ungeschützter Thio- alkohol	35
20	Polyacrylsäure	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	S-geschützter Thio- alkohol	40
				45
				50
				55
				60
				65

5	21	Polyacrylsäure	Aminosäure	ungeschützter Ami- noalkohol
10	22	Polyacrylsäure	Aminosäure	O-geschützter Ami- noalkohol
15	23	Polyacrylsäure	Aminosäure	Ungeschütztes Thio- amin
20	24	Polyacrylsäure	Aminosäure	S-geschütztes Thio- amin
25	25	Polyacrylsäure	Kombination aus Diamin und Dicar- bonsäure	ungeschützter Ami- noalkohol
30	26	Polyacrylsäure	Kombination aus Diamin und Dicar- bonsäure	O-geschützter Ami- noalkohol
35	27	Polyacrylsäure	Kombination aus Diamin und Dicar- bonsäure	Ungeschütztes Thio- amin
40	28	Polyacrylsäure	Kombination aus Diamin und Dicar- bonsäure	S-geschütztes Thio- amin

60

65

29	Polyvinylamin	Hydroxycarbonsäuren	Ungeschützte Aminosäure	5
30	Polyvinylamin	Hydroxycarbonsäuren	N-geschützte Aminosäure	10
31	Polyvinylamin	Hydroxycarbonsäuren	Ungeschützte Thiolsäure	15
32	Polyvinylamin	Hydroxycarbonsäuren	S-geschützte Thiolsäure	20
33	Polyvinylamin	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	Ungeschützte Aminosäure	25
34	Polyvinylamin	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	N-geschützte Aminosäure	30
35	Polyvinylamin	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	Ungeschützte Thiolsäure	35
36	Polyvinylamin	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	S-geschützte Thiolsäure	40
				45
				50
				55
				60
				65

37	Polyvinylamin	Aminosäure	Ungeschützte Thiolsäure
38	Polyvinylamin	Aminosäure	S-geschützte Thiolsäure
39	Polyvinylamin	Kombination aus Diamin und Dicarbonsäure	Ungeschützte Thiolsäure
40	Polyvinylamin	Kombination aus Diamin und Dicarbonsäure	S-geschützte Thiolsäure
41	Polysaccharid	Hydroxycarbonsäure	Ungeschützte Aminosäure
42	Polysaccharid	Hydroxycarbonsäure	N-geschützte Aminosäure
43	Polysaccharid	Hydroxycarbonsäuren	Ungeschützte Thiolsäure
44	Polysaccharid	Hydroxycarbonsäuren	S-geschützte Thiolsäure
45	Polysaccharid	Kombination aus	Ungeschützte Aminosäure

60

65

		Diol und Dicarbon- säure	nosäure	5
46	Polysaccharid	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	N-geschützte Ami- nosäure	10
47	Polysaccharid	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	Ungeschützte Thiol- säure	15 20
48	Polysaccharid	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	S-geschützte Thiol- säure	25 30
49	Polysaccharid	Aminosäure	Ungeschützte Thiol- säure	35
50	Polysaccharid	Aminosäure	S-geschützte Thiol- säure	40
51	Polysaccharid	Kombination aus Diamin und Dicar- bonsäure	Ungeschützte Thiol- säure	45 50
52	Polysaccharid	Kombination aus Diamin und Dicar- bonsäure	S-geschützte Thiol- säure	55

		bonsäure	
53	Polycystein	Hydroxycarbonsäuren	Ungeschützte Aminosäure
54	Polycystein	Hydroxycarbonsäuren	N-geschützte Aminosäure
55	Polycystein	Hydroxycarbonsäuren	Ungeschützte Thiolsäure
56	Polycystein	Hydroxycarbonsäuren	S-geschützte Thiolsäure
57	Polycystein	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	Ungeschützte Aminosäure
58	Polycystein	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	N-geschützte Aminosäure
59	Polycystein	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	Ungeschützte Thiolsäure
60	Polycystein	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	S-geschützte Thiolsäure

		säure	
61	Polycystein	Aminosäure	Ungeschützte Thiolsäure
62	Polycystein	Aminosäure	S-geschützte Thiolsäure
63	Polycystein	Kombination aus Diol und Dicarbon-säure	Ungeschützte Thiolsäure
64	Polycystein	Kombination aus Diol und Dicarbon-säure	S-geschützte Thiolsäure
65	Polyserin	Hydroxycarbonsäure	Ungeschützte Aminosäure
66	Polyserin	Hydroxycarbonsäure	N-geschützte Aminosäure
67	Polyserin	Hydroxycarbonsäuren	Ungeschützte Thiolsäure
68	Polyserin	Hydroxycarbonsäuren	S-geschützte Thiolsäure

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

5	69	Polyserin	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	Ungeschützte Ami- nosäure
10	70	Polyserin	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	N-geschützte Ami- nosäure
15	71	Polyserin	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	Ungeschützte Thiol- säure
20	72	Polyserin	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	S-geschützte Thiol- säure
25	73	Polyserin	Aminosäure	Ungeschützte Thiol- säure
30	74	Polyserin	Aminosäure	S-geschützte Thiol- säure
35	75	Polyserin	Kombination aus Diamin und Dicar- bonsäure	Ungeschützte Thiol- säure
40	76	Polyserin	Kombination aus	S-geschützte Thiol- säure
45			Diamin und Dicar- bonsäure	
50				
55				
60			Diamin und Dicar- bonsäure	

vorzugsweise

65

<b>Komb .-Nr.</b>	<b>Polymerrück- grat</b>	<b>Monomere der Sei- tenkette bzw. Deri- vat</b>	<b>Seitenketten- Endstück bzw. Derivat</b>
77	Polyvinylalkohol	Milchsäure	Ungeschützte Amino- säure
78	Polyvinylalkohol	Milchsäure	N-geschützte Amino- säure
79	Polyvinylalkohol	Milchsäure	$\beta$ -Alanin
80	Polyvinylalkohol	Milchsäure	N-FMOC- $\beta$ -Alanin
81	Polyvinylalkohol	Glykolsäure	Ungeschützte Amino- säure
82	Polyvinylalkohol	Glykolsäure	N-geschützte Amino- säure

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

83	Polyvinylalkohol	Glykolsäure	$\beta$ -Alanin
84	Polyvinylalkohol	Glykolsäure	N-FMOC- $\beta$ -Alanin
85	Polyvinylalkohol	Weinsäure	Ungeschützte Aminosäure
86	Polyvinylalkohol	Weinsäure	N-geschützte Aminosäure
87	Polyvinylalkohol	Weinsäure	$\beta$ -Alanin
88	Polyvinylalkohol	Weinsäure	N-FMOC- $\beta$ -Alanin
89	Polyvinylalkohol	Zitronensäure	Ungeschützte Aminosäure
90	Polyvinylalkohol	Zitronensäure	N-geschützte Aminosäure
91	Polyvinylalkohol	Zitronensäure	$\beta$ -Alanin
92	Polyvinylalkohol	Zitronensäure	N-FMOC- $\beta$ -Alanin
93	Polyacrylsäure	Milchsäure	ungeschützter Aminoalkohol
94	Polyacrylsäure	Milchsäure	N-geschützter Aminoalkohol

95	Polyacrylsäure	Milchsäure	Aminoethanol
96	Polyacrylsäure	Milchsäure	N-FMOC-Colamin
97	Polyacrylsäure	Glykolsäure	ungeschützter Ami- noalkohol
98	Polyacrylsäure	Glykolsäure	N-geschützter Ami- noalkohol
99	Polyacrylsäure	Glykolsäure	Aminoethanol
100	Polyacrylsäure	Glykolsäure	N-FMOC-Colamin
101	Polyacrylsäure	Weinsäure	ungeschützter Ami- noalkohol
102	Polyacrylsäure	Weinsäure	N-geschützter Ami- noalkohol
103	Polyacrylsäure	Weinsäure	Aminoethanol
104	Polyacrylsäure	Weinsäure	N-FMOC-Colamin
105	Polyacrylsäure	Zitronensäure	ungeschützter Ami- noalkohol
106	Polyacrylsäure	Zitronensäure	N-geschützter Ami- noalkohol
107	Polyacrylsäure	Zitronensäure	Aminoethanol
108	Polyacrylsäure	Zitronensäure	N-FMOC-Colamin

insbesondere

<b>Komb .-Nr.</b>	<b>Polymerrück- grat</b>	<b>Monomere der Sei- tenkette bzw. Deri- vat</b>	<b>Seitenketten- Endstück bzw. De- rivat</b>
79	Polyvinylalkohol	Milchsäure	$\beta$ -Alanin
80	Polyvinylalkohol	Milchsäure	N-FMOC- $\beta$ -Alanin
95	Polyacrylsäure	Milchsäure	Aminoethanol
96	Polyacrylsäure	Milchsäure	N-FMOC-Colamin

[0055] Für alle vorstehend beschriebenen erfundungsgemäßen Partikel ist es eine bevorzugte Ausführungsform dieser Erfindung, wenn die Partikel Nanopartikel sind und entsprechend eine Länge < 5  $\mu\text{m}$ , vorzugsweise < 3  $\mu\text{m}$ , insbesondere < 2  $\mu\text{m}$  und/oder eine Dicke und Breite von < 200 nm, vorzugsweise < 75 nm, insbesondere < 30 nm aufweisen. [0056] Dabei versteht man unter Nanopartikel Partikel, die in mindestens zwei Dimensionen eine Größe unter 1  $\mu\text{m}$  aufweisen. Insbesondere haben Nanopartikel ein Volumen unter 1  $\mu\text{m}^3$ . Bei Nanopartikeln handelt es sich um solide kolloidale Partikel.

[0057] In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der Erfindung sind die erfundungsgemäßen Partikel speziell oberflächenmodifiziert. Gerade diese Partikel lösen in hervorragender Weise die Aufgabe der Erfindung, da sie insbesondere zum zielgerichteten Transport geeignet sind. Daher sind ein weiterer Gegenstand der Erfindung erfundungsgemäße Partikel zum Transport pharmazeutischer Wirkstoffe, an die Linker-Moleküle, die eine reaktive Gruppe (z') ausgewählt aus Gruppen, die mit einer der Gruppen (z) ausgewählt aus den oben bereits definierten "freien Gruppen" (z) ausgewählt aus OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> sowie der Vinyl- oder Epoxy-Gruppe eine kovalente Bindung eingehen können, vorzugsweise eine amino- oder thiolreaktive Gruppe, insbesondere eine aminoreaktive Gruppe, aufweisen, kovalent über (z')-(z)-Bindungen mit auf der Oberfläche des Partikels vorliegenden Gruppen (z) ausgewählt aus den "freien Gruppen", gebunden sind. Bei den erfundungsgemäßen Partikel werden diese "freien Gruppen" (z) an der Oberfläche (gegebenenfalls nach Entfernung der Schutzgruppe) durch die Seitenkettenendstücke zur Verfügung gestellt.

[0058] Dabei versteht man unter Linker-Molekülen Polymere, insbesondere unverzweigte Polymere, die die Eigenschaften, insbesondere die Oberflächeneigenschaften, des Partikels verändern, insbesondere aber zur sterisch günstigen Anbindung von anderen bioaktiven Verbindungen an die Partikel dienen oder gegebenenfalls auch die Partikel sterisch vor Abbau schützen.

[0059] Unter "reaktiver Gruppe" [(z')] sowie auch anderen (z'')] sind insbesondere im Stand der Technik bekannte Gruppen zu verstehen, die leicht kovalent an die bereits oben definierten "freien Gruppen" (z), insbesondere Amino-, Thiol-, Carboxy- oder Hydroxygruppen binden, sowie an Epoxy- oder Vinyl-Gruppen.

[0060] Dabei ist es besonders bevorzugt, wenn die Linker-Moleküle bifunktionell sind und neben der an das erfundungsgemäße Partikel bindenden reaktiven Gruppe (z') an einem anderen Ende des Moleküls auch eine weitere reaktive Gruppe (z''), ausgewählt aus reaktiven Gruppen, die mit einer der Gruppen (z) ausgewählt aus den "freien Gruppen" (z) ausgewählt aus OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> sowie der Vinyl- oder Epoxy-Gruppe eine kovalente Bindung eingehen können, vorzugsweise eine thiolreaktive Gruppe, aufweisen, wobei z'  $\neq$  z'' ist.

[0061] Dabei ist es ebenso eine bevorzugte Ausführungsform der Erfindung, wenn beispielsweise die thiolreaktive Gruppe an das erfundungsgemäße Partikel bindet und (bei bifunktionellen Linkern) an einem anderen Ende des Linker-Moleküls beispielsweise eine aminoreaktive Gruppe wäre. Die Wahl der reaktiven Gruppen der Linker-Moleküle hängt zum einen von der oder den freien Gruppe(n), vorzugsweise der freien Gruppe, auf dem erfundungsgemäßen Partikel, an die der Linker bindet. Zum anderen hängt er von einer gegebenenfalls weiteren Modifikation oder den durch den Linker transferierten Oberflächeneigenschaft ab, insbesondere wird eine mögliche zweite reaktive Gruppe am Linker-Molekül von der Natur eines evtl. noch an den Linker anzusynthetisierenden oder bereits ansynthetisierten Moleküls bestimmt.

[0062] Ebenso bevorzugt ist es, wenn die die Linker-Moleküle eine Mischung der beschriebenen bifunktionellen Moleküle und monofunktioneller Moleküle, die neben der an das erfundungsgemäße Partikel bindenden reaktiven Gruppe (z'), vorzugsweise der amino- oder thiolreaktiven Gruppe, insbesondere der aminoreaktiven Gruppe, an keinem anderen Ende des Moleküls eine weitere, anders reaktive funktionelle Gruppe (z'') mit z'  $\neq$  z'' aufweisen, sind.

[0063] Diese Partikel sind sehr günstig, da damit sperrige Reste wie Antikörper an den bifunktionellen Resten ungebhindert angelagert werden können, während die monofunktionellen Linker einen Abbau sterisch hindern. Diese Partikel werden auch als Akanthosphären bezeichnet.

[0064] Dabei ist es wieder besonders bevorzugt, wenn an der Oberfläche dieser Partikel (Akanthosphären) deutlich mehr, vorzugsweise mindestens 100% mehr, monofunktionelle als bifunktionelle Moleküle kovalent gebunden sind.

[0065] Es ist bevorzugt, wenn an die bifunktionellen Linker-Moleküle bioaktive Makromoleküle oder "Sucher"-Moleküle, ausgewählt aus Peptiden, Proteinen; vorzugsweise Antikörpern, Antikörperfragmenten oder Antikörperderivaten mit zielbindenden Eigenschaften wie "Single-chain"-Antikörpern; Hormonen, Zuckern, vorzugsweise Glykosiden; synthetischen oder natürlichen Rezeptor-Liganden; Proteinen oder Peptiden mit einer freien Cysteingruppe oder Thiozuckern, über eine Bindung zur reaktiven Gruppe (z") angekoppelt sind, angekoppelt werden oder vor der Oberflächenmodifikation angekoppelt wurden.

[0066] Unter dem Begriff "Sucher"-Molekül im Sinne dieser Erfindung versteht man allgemein an die erfindungsgemäßen Partikel ankoppelbare Verbindungen, die in der Lage sind, mit hoher Affinität an die biologischen Ziele der Wirkstoffe, als da wären Proteine, Peptide, Polysaccharide, Oligosaccharide, Lipoproteine, Glykoproteine oder andere biologische Moleküle, die entweder in gesundem Gewebe (physiologisch) oder in oder nahe krankem Gewebe (pathologisch) exprimiert werden, zu binden. "Sucher"-Moleküle können beispielsweise Peptide, Proteine, beispielsweise Antikörper, Antikörperfragmente oder Antikörperderivate mit zielbindenden Eigenschaften wie "Single-chain"-Antikörper, Hormone, Zucker, beispielsweise Glykoside; synthetische oder natürliche Rezeptor-Liganden sein. Besonders bevorzugt sind Antikörper, -derivate, -fragmente und Glykoside.

[0067] Es ist weiter bevorzugt, wenn an die bifunktionellen Linker-Moleküle bioaktive Makromoleküle oder allgemein "Sucher"-Moleküle, vorzugsweise Antikörper, Antikörperfragmente oder Antikörperderivate mit zielbindenden Eigenschaften wie z. B. "Single-chain"-Antikörper, den Eigenschaften wie z. B. "Single-chain"-Antikörper, insbesondere mit freier Cysteingruppe, über eine Bindung zur reaktiven Gruppe (z") angekoppelt sind, angekoppelt werden oder vor der Oberflächenmodifikation angekoppelt wurden. Das gilt insbesondere für Partikel, deren Beschichtung deutlich mehr monofunktionelle als bifunktionelle Moleküle enthält. Unabhängig von der Reihenfolge der Reaktionen wird auf diese Weise ein vollständig kovalent verbundenes Makromolekül erhalten, das folgende Architektur aufweist: eine zentrale Achse aus Polyvinylalkohol, von dessen OH-Gruppen hydrophobe Polykondensate aus Hydroxycarbonsäuren ausgehen, die mit Nischhydroxycarbonsäuren abschließen, welche entweder frei in hydrophilen Gruppen enden oder die mit polymeren, hydrophileren Linkern verknüpft sind, wobei sich an einen Teil dieser Linker wiederum "Sucher"-Moleküle anschließen.

[0068] Bevorzugt ist es auch, wenn an die bisfunktionellen Linker-Moleküle bioaktive Mikromoleküle oder "Sucher"-Moleküle, vorzugsweise Zucker, insbesondere Thiozucker, Hormone oder Proteine, insbesondere mit freier Cysteingruppe, über eine Bindung zur reaktiven Gruppe (z") angekoppelt sind, angekoppelt werden oder vor der Oberflächenmodifikation angekoppelt wurden. Das gilt insbesondere für Partikel, deren Beschichtung überwiegend oder vollständig aus bifunktionellen Molekülen besteht.

[0069] Bevorzugt ist es weiter, wenn an den erfindungsgemäßen Partikeln nach Bindung der bioaktiven Mikromoleküle oder "Sucher"-Moleküle noch freie reaktive Gruppen (z") abgesättigt werden, vorzugsweise mit Cystein.

[0070] Es ist eine weitere bevorzugte Ausführungsform der oberflächenmodifizierten Partikel, wenn die Linker-Moleküle monofunktionelle Moleküle sind, die neben der an das erfindungsgemäße Partikel bindenden reaktiven Gruppe (z'), vorzugsweise der amino- oder thiolreaktiven Gruppe, insbesondere der aminoreaktiven Gruppe an keinem anderen Ende des Moleküls eine weitere, anders reaktive Gruppe (z") mit z' ≠ z" aufweisen.

[0071] Insbesondere bevorzugt ist es, wenn die Linker-Moleküle Polyglykolide sind, vorzugsweise Polyethylenglykoldervate, insbesondere NHS-Ester-Polyethylenglykol oder NHS-Ester/Vinylsulfon-Polyethylenglykol.

[0072] Generell erfolgt eine gegebenenfalls anschließende Reinigung oder Isolierung vorzugsweise über eine Dialyse vorzugsweise mit selektiven Ausschlußmembranen.

[0073] Für alle erfindungsgemäßen Partikel ist es bevorzugt, wenn der zu transportierende pharmazeutische Wirkstoff ein synthetischer oder natürlicher Wirkstoff, ein Protein, Peptid, Lipid, Zucker oder Nukleinsäure bzw. ein niedermolekularer organischer oder hochmolekularer organischer Wirkstoff, beispielsweise ein Hormon, eine antineoplastische Substanz, ein Antibiotikum, Antimykotikum, Parasitzid, Virustatikum oder Antihelminthikum, eine cardioaskulär-aktive Substanz; eine zentralwirksame Substanz, insbesondere ein Analgetikum, Antidepressivum oder Antiepileptikum; ist.

[0074] Generell ist es eine bevorzugte Ausführungsform der erfindungsgemäßen Partikel, wenn das erfindungsgemäße Partikel direkt oder über einen Linker, vorzugsweise über bifunktionelle Polyethylenglykol-Moleküle, verknüpft ist mit einem "Sucher"-Molekül ausgewählt aus:

Peptiden, Proteinen; vorzugsweise Antikörpern, Antikörperfragmenten oder Antikörperderivaten mit zielbindenden Eigenschaften wie "Single-chain"-Antikörpern; Hormonen, Zuckern, vorzugsweise Glykosiden; synthetischen oder natürlichen Rezeptor-Liganden; Proteinen oder Peptiden mit einer freien Cysteingruppe oder Thiozuckern.

[0075] Auch die Verfahren zur Herstellung erfindungsgemäßer Partikel sind ein wichtiger Teil der Erfindung. Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist daher ein Verfahren zur Herstellung eines erfindungsgemäßen Partikels, bei dem ein unverzweigtes oder maximal dreimal verzweigtes Polymerrückgrat aufgebaut aus Monomeren mit jeweils mindestens einer Bindungsgruppe (x) an jedem Monomer mit

Monomeren mit jeweils mindestens einer Bindungsgruppe (y) und mindestens einer Bindungsgruppe (x'), wobei (x') eine kovalente Bindung sowohl mit (x) als auch mit (y) eingehen kann,

einer Mischung von Monomeren, wovon mindestens ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y) und mindestens ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') aufweist, wobei (x') eine kovalente Bindung sowohl mit (x) als auch mit (y) eingehen kann, oder

einer Mischung von Monomeren, wovon mindestens ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y), mindestens ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') und mindestens ein weiteres Monomer mindestens eine Bindungsgruppe (y) und mindestens eine Bindungsgruppe (x') aufweist, wobei (x') eine kovalente Bindung sowohl mit (x) als auch mit (y) eingehen kann,

sowie mindestens einem Seitenkettenendstück, mit mindestens einer Bindungsgruppe (y'), ohne Bindungsgruppe (y) und mit mindestens einer gegebenenfalls mit einer Schutzgruppe versehenen freien Gruppe (z), wobei

das molare Verhältnis zwischen den Monomeren der Molekülseitenketten (b) und den Seitenkettenendstücken (c) << 1

ist,  
die Gruppe y  $\neq$  der Gruppe z und die Gruppe x'  $\neq$  der Gruppe z ist,  
das molare Verhältnis zwischen den Monomeren des Molekülrückgrats und den Seitenkettenendstücken (c) etwa äquimolar ist,

5 x, x', y und y' unabhängig voneinander ausgewählt sind aus OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> unter der Bedingung, daß x/x', x'/y bzw. y/y' entsprechende Bindungspaare x/x', x'/y bzw. y/y' (mit der entsprechenden Bindung) ausgewählt aus OH/COOH (Ester-Bindung -O-C(O)-), NH<sub>2</sub>/COOH (Amid-Bindung -NH-C(O)-), SH/COOH (Thio-Ester-Bindung -S-C(O)-), COOH/OH (Ester-Bindung -O-C(O)-), COOH/NH<sub>2</sub> (Amid-Bindung -NH-C(O)-) oder COOH/S (Thio-Ester-Bindung -S-C(O)-) bilden,

10 z ausgewählt ist aus CH<sub>3</sub>, OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> sowie der Vinyl- oder Epoxy-Gruppe gegebenenfalls geschützt durch eine Schutzgruppe und  
die Seitenketten-Monomere als reine Monomere oder Derivate wie intramolekulare Anhydride oder Lactone eingesetzt werden können, solange sie noch mit sich und/oder anderen Seitenketten-Monomeren Ketten bilden können, unter Bedingungen, die eine Bindung zwischen den Monomeren bzw. Monomeren-Gemischen der Seitenkette und dem

15 Polymerrückgrat sowie den Seitenkettenendstücken als auch eine Polykondensation der Monomeren bzw. Monomeren-Gemischen der Seitenkette erlauben, in Kontakt gebracht wird,  
gegebenenfalls in einem wasserfreien organischen Lösungsmittel, vorzugsweise Pyridin, gegebenenfalls in Gegenwart von Thionylchlorid und anschließend gegebenenfalls gereinigt, vorzugsweise durch Dialyse gegen H<sub>2</sub>O, und gegebenenfalls isoliert wird,

20 sowie gegebenenfalls anschließend die Partikel mit dem zu transportierenden hydrophoben oder hydrophobisierten Wirkstoff in einem wasserfreien organischen Lösungsmittel gelöst werden, dann die Lösung einige Zeit, vorzugsweise über Nacht, vorzugsweise bei Raumtemperatur, inkubiert wird, dann die Lösung mit Wasser gesättigt wird und anschließend die wassergesättigte Lösung in einem größeren Volumen Wasser gelöst wird, sich gegebenenfalls eine mechanische Behandlung anschließt und dann gegebenenfalls die Partikel gereinigt, vorzugsweise durch Dialyse gegen H<sub>2</sub>O, und isoliert werden.

25 [0076] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung eines erfindungsgemäßen Partikels (mit Linker-Molekül), bei dem man erfindungsgemäßes Partikel (ohne Linker-Molekül), das eine Gruppe (z) ausgewählt aus den freien Gruppen mit einem Linker-Molekül enthaltend eine reaktive Gruppe (z'), die mit der Gruppe (z) eine kovalente Bindung eingehen kann, enthält, unter zur Ausbildung dieser kovalenten Bindung geeigneten Bedingungen in

30 Kontakt bringt und gegebenenfalls anschließend die Partikel reinigt, vorzugsweise durch Dialyse gegen WO, und isoliert. Geeignet sind zum Beispiel neutrale bis schwach basische Bedingungen.

[0077] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung eines erfindungsgemäßen Partikels (mit Linker-Molekül und "Sucher"-Molekül), bei dem man im Anschluß an das vorstehende Verfahren danach hergestellte Partikel (mit Linker-Molekül), die an bifunktionellen Linker-Molekülen eine freie reaktive Gruppe (z'') aufweisen

35 mit bioaktiven Makromolekülen oder "Sucher"-Molekülen wie oben definiert unter zur Ausbildung einer Bindung zwischen der Gruppe (z'') und den bioaktiven Makromolekülen oder "Sucher"-Molekülen unter geeigneten Bedingungen in Kontakt bringt und gegebenenfalls anschließend die Partikel reinigt, vorzugsweise durch Dialyse gegen H<sub>2</sub>O, und isoliert.

[0078] Die erfindungsgemäßen Partikel sind besonders geeignete Formen zur Verstärkung der gewünschten Effekte

40 bekannter Wirkstoffe und zur Minimierung systemischer Nebenwirkungen durch die kontrollierte und/oder räumlich spezifische Freisetzung des Effektor-Moleküls erreicht wird. Damit sind sie geeignet und vorgesehen in Therapeutika verschiedenster Art eingesetzt zu werden. Ein weiterer Gegenstand der Erfindung sind daher Arzneimittel, die erfindungsgemäße Partikel sowie gegebenenfalls geeignete Zusatz- und/oder Hilfsstoffe enthalten.

[0079] Prinzipiell können die erfindungsgemäßen Arzneimittel als flüssige Arzneiformen in Form von Aerosolen, Injektionslösungen, Tropfen oder Säften oder als halbfeste Arzneiformen in Form von Granulaten, Tablettten, Pellets oder Kapseln verabreicht werden.

[0080] Geeignete Zusatz- und/oder Hilfsstoffe sind z. B. Lösungs- oder Verdünnungsmittel, Stabilisatoren, Suspensionsvermittler, Puffersubstanzen, Konservierungsmittel, sowie Farbstoffe, Füllstoffe, und/oder Bindemittel. Die Auswahl der Hilfsstoffe sowie die einzusetzenden Mengen derselben hängt davon ab, ob das Arzneimittel z. B. inhalativ, oral, parenteral, parenteral, intravasal, intravenös, intraperitoneal, rektal, subkutan oder intramuskulär appliziert werden soll. Für orale Applikationen eignen sich Zubereitungen in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Granulaten oder Suspensionen wie Tropfen, Säften und Sirupen, für andere Applikationen Suspensionen sowie leicht rekonstituierbare Trocken-zubereitungen.

[0081] Die erfindungsgemäßen Partikel sind auch besonders als Diagnostika geeignet, da sie beispielsweise Marker gezielt in die richtige Zelle einbringen können. Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist daher ein Diagnostikum, das erfindungsgemäße Partikel sowie gegebenenfalls geeignete Zusatz- und/oder Hilfsstoffe enthält.

[0082] Weiter sind – wie oben ausgeführt – die erfindungsgemäßen Partikel besonders geeignete Formen mit denen eine Verstärkung der Wirkung und Minimierung der Nebenwirkungen durch die kontrollierte und/oder räumlich spezifische Freisetzung des Effektor-Moleküls erreicht wird, so daß eine generelle Verwendbarkeit dieser Partikel zur Herstellung von Therapeutika vorliegt und sie sind natürlich generell für eine unbeschränkte Zahl von Indikationen geeignet. Ohne die Verwendung der erfindungsgemäßen Partikel darauf beschränken zu wollen, bietet sich deren Verwendung für besondere Indikationen an. Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist daher die Verwendung der erfindungsgemäßen Partikel zur Herstellung eines Arzneimittel zur Krebsbehandlung, zur Behandlung von Infektionskrankheiten und Parasiten, zur Behandlung von Krankheiten und Symptomen mit zentralnervöser Ursache, zur Verwendung in der Gentherapie oder für genomics Targeting. Weiter ist beispielsweise der Einsatz beim Targeting von Cytostatika auf Tumorzellen, beim Transport von therapeutisch nutzbaren Substanzen durch die Blut-Hirn-Schranke und bei der Behandlung von schweren Infektionen (namentlich durch Eukaryonten) auch bevorzugt.

[0083] Weitere Anwendungsmöglichkeiten umfassen z. B. den Transfer von pflanzlichen Alkaloiden mit mikrobicider

# DE 101 18 852 A 1

Wirkung in Trypanosomen und von Antioxydantien und antiinflammatorischen Verbindungen [Vitamin E, Gallsäure, N-Acetyl-L-Cystein, 2,6-bis(tert-butyl)-4-Mercaptophenol, Ibuprofen und Gentisinsäure] bei (degenerativen) Gehirnerkrankungen, den Transfer von Substanzen in Hepatozyten, primär für die Behandlung von Neoplasmen, auch die Erhöhung der Wirkung von Primaquin auf die in den Leberzellen überdauernden Plasmodium-Hypnozoiten. Wirksam sind die erfindungsgemäßen Partikel auch gegen *Trypanosoma brucei brucei*.

5

[0084] Unter den möglichen Anwendungen für die erfindungsgemäßen Partikel sind besonders weiter zu nennen:

- Transport von sonst nicht gehirngängigen Pharmaka (z. B. Cytostatika, Psychopharmaka, Schmerzmittel, M' Alzheimer-Therapeutika) mit antikörper-konjugierten Trägern durch die Blut-Hirn-Schranke.
- Zielgerichtetes Einbringen von Pharmaka (z. B. Virusstatika, Cytostatika, Plasmodizide) mit glykosid-konjugierten Trägern in Hepatozyten.
- Orale Verabreichung von sonst nur parenteral verfügbaren Pharmaka durch Targeting auf Darmepithelien.
- Erhöhung der Wirkung von antiparasitischen Therapeutika durch Targeting auf parasiten-spezifische Oberflächenmoleküle.

15

[0085] Ein weiterer Gegenstand des Verfahrens ist auch die Behandlung eines Menschen oder Tieres, der oder das diese Behandlung benötigt, mit oder unter Verwendung der erfindungsgemäßen Partikel. Besonders geeignet ist diese Behandlung bei den vorgenannten Indikationen und Anwendungsarten.

[0086] Im folgenden Abschnitt wird die Erfindung weiter durch Beispiele erläutert, ohne sie darauf zu beschränken.

20

## Beispiele und Abbildungen

### Abbildungen

[0087] Abb. 1 zeigt schematisch den generellen Aufbau und die Gestalt von erfindungsgemäßen Partikeln, einfachen Partikeln, einfachen Stealth-Partikeln, zielsuchenden Aktinosphären und zielsuchenden Akanthosphären.

25

[0088] Abb. 2 zeigt die Synthese von Ktenaten.

[0089] Abb. 3 zeigt die Gesamtstruktur eines fertigen monomolekularen Partikels mit Stacheln, auch "Bdellosom" genannt (griech. *bdella* = Egel).

30

[0090] Abb. 4 zeigt eine elektronenmikroskopische Aufnahme von BSA-konjugierten Ktenat-Partikeln (Akanthosphären).

[0091] Abb. 5 zeigt die Ergebnisse eines Modellversuchs an dem einzelligen Parasiten *Trypanosoma brucei*. Die Bindung erfindungsgemäß hergestellter Partikel an die Zielzellen korreliert mit parasitizider Wirkung des enthaltenen Dau-nomycins.

35

### Beispiele

## Allgemeine Bemerkungen

[0092] Die nachfolgend ausgeführten Beispiele beschreiben von der Erfindung umfaßte Partikel, insbesondere Nanopartikel, in denen die Möglichkeit realisiert ist, Wirksubstanzen in kolloidale Trägerpartikel einzulagern. Diese können gegebenenfalls beispielsweise mit Antikörpern gegen oder natürlichen Liganden für charakteristische Molekularstrukturen des Ziels oder anderer "Suchermolekülen" verknüpft. Optional können die Nanopartikel beispielsweise zugleich durch inerte Beschichtung ihrer Oberfläche gegen das Immunsystem geschützt werden. Generell handelt es sich bei den hier beispielhaft beschriebenen, von der Erfindung umfaßten Partikel um kolloidale, lipidfreie Partikelsysteme. Einige der hier beschriebenen, von der Erfindung umfaßten Partikel werden nachfolgend mit den allgemeinen Begriffen Aktinosphären und Akanthosphären bezeichnet (s. Abb. 1). Diese Bezeichnungen werden, da sie strukturelle Konzepte und nicht sterische Grundformen bezeichnen, unabhängig von nicht sterischen Grundformen bezeichnen, unabhängig von der tatsächlichen Geometrie beibehalten.

40

[0093] Aufgrund Ihrer Form werden die Partikel generell als Bdellosomen bezeichnet.

45

50

### Beispiel 1

#### Herstellung des Bdellosomen-Grundkörpers

55

##### a) Allgemeine Beschreibung des Grundkörpers

[0094] Das Beispiel basiert auf monomolekularen Partikeln aus einem komplex strukturierten Polylaktidderivat, aufgrund seiner Kammstruktur als Ktenat bezeichnet. Ktenat bildet in wäßrigem Milieu fadenförmige Partikel, sogenannte Bdellosomen, mit durch Variation der Syntheseparameter frei wählbaren Dimensionen (Durchmesser im Nanometerbereich, Länge bis zu mehreren Mikrometern), nachfolgend Bdellosomen genannt (gr. *Bdella* = Egel). Es ist dabei imstande, einerseits niedermolekulare, bevorzugt hydrophobe Substanzen stabil einzulagern, andererseits an exponierten funktionellen Gruppen chemisch so modifiziert zu werden, daß ein "Targeting" erreicht werden kann. Die Realisierung der Partikelsysteme erfolgt durch Synthese von monomolekularen Partikeln auf der Basis von Polyvinylalkohol als "Rückgrat", an dessen OH-Gruppen Ketten aus polymerer Milchsäure (oder einer anderen geeigneten Hydroxycarbon-säure) ankondensiert werden. Mithin bestimmt die Länge des Polyvinylrückgrates die Größe des Partikels in einer Dimension (Längsachse) und wird nachfolgend als a bezeichnet.

60

[0095] Da die Seitenketten aus bifunktionalen Monomeren bestehen – jedes dieser Monomere hat ein OH-Ende, an das

65

sich das nächste Säuremolekül (entweder ein gleichartiges Monomer oder ein zum Kettenabbruch führendes Molekül der Nichthydroxycarbonsäure) anhängen kann, und ein COOH-Ende, das mit einer weiteren Hydroxylgruppe (entweder der eines gleichartigen Monomers oder eine zur Beendigung des Kettenwachstums führende OH-Gruppe des Polyvinylrückgrates) reagieren kann, ist es möglich, durch Zusatz geringer, aber untereinander äquimolarer Mengen von säurefreiem Alkohol und nichthydroxylierter Carbonsäure "Endstücke" zur Verfügung zu stellen, deren Konzentration relativ zur Konzentration der Hydroxycarbonsäure die Kettenlänge reguliert. Als COOH-seitiges Endstück dienen die Alkoholgruppen des Polyvinylrückgrates, als OH-seitiges Endstück eine beliebige andere Carbonsäure. Selbstverständlich muß die Molarität der OH-terminal anzufügenden Carbonsäure der Molarität der OH-Gruppen des Polyvinylalkohols entsprechen, um definierte Reaktionsbedingungen zu schaffen. Es ergibt sich mithin folgendes Verhältnis  $b$ , das der durchschnittlichen Kettenlänge der Seitenketten entspricht und zusammen mit  $a$  die Geometrie der entstehenden Nanopartikel festlegt:

$$b = c(\text{Hydroxycarbonsäure}) : \{c(\text{OH-Gruppen}) = c(\text{Nicht-Hydroxy-Carbonsäure})\}$$

15 [0096] Die Synthese läuft durch Umsetzen des Reaktionsgemisches aus Polyvinylalkohol, Hydroxycarbonsäure und Nicht-Hydroxy-Carbonsäure im wasserfreien Milieu mit Thionylchlorid, welches die Säuregruppen in die entsprechenden Chloride überführt, die dann unter Wasserabspaltung mit Hydroxylgruppen reagieren und so Polykondensate bilden (s. Abb. 2).

20 [0097] Es entsteht hierbei ein in der Schemadarstellung kammförmiges Molekül mit  $a$  vom Polyvinyl-Rückgrat herabhängenden Seitenketten mit einer durchschnittlichen Länge von  $b$  Monomereinheiten, die mit einem nichthydroxylierten Schlußstück enden. Bei Auswahl geeigneter Monomere ist diese Anordnung im wäßrigen Milieu energetisch ungünstig und führt zur "Aufrollung" der Molekülstruktur zu einer Raumstruktur, in der sich die Seitenketten auf allen Seiten um das Rückgrat schlingen ("Flaschenbürsten"-Struktur). Durch die Seitenketten wird das Rückgrat weitgehend ausgestreckt, so daß die Dimensionen des Nanopartikels sich in folgendem Bereich bewegen:

25 Länge:  $a * \text{Länge des Polyvinyl-Monomers}$

Breite und Höhe:

$$\sqrt{b} * \text{Länge des Seitenketten-Monomers}$$

30 [0098] Dient als Endstück der Seitenketten eine (z. B. mit FMOC) geschützte Aminosäure, kann am Ende der Syntheseaktion die Schutzgruppe abgespalten werden (im Fall von FMOC durch Behandlung mit katalytischen Mengen von Piperidin), wodurch Seitenketten mit terminaler, im wäßrigen Milieu räumlich exponierter Aminogruppe erhalten werden, die nicht nur durch ihre Hydrophilie die Struktur stabilisieren und Flocculation im wäßrigen Medium verhindern, sondern überdies auch als Ansatzpunkte für Oberflächenreaktionen (s. Beispiel 3) dienen können.

## b) Konkrete Durchführung

35 [0099] Es wurden aus geeigneten Mengen von Polyvinylalkohol 200'000 (Mowiol™), Milchsäure und N-FMOC- $\square$ -Alanin unter Verwendung von Pyridin als Lösungsmittel durch Umsetzen mit Thionylchlorid und anschließendes Abspalten der FMOC-Gruppe mit Piperidin Moleküle erzeugt, die als Polyvinyl(telo-alanyl-polylaktid)at [ $a = 4000$ ,  $b = 100$ ] bezeichnet werden können. Im Folgenden wird diese Substanzklasse mit der allgemeinen Bezeichnung Säure-Schlußstück-Ktenat( $a, b$ ) (griech. κτείς = Kamm) bezeichnet werden.

40 [0100] Das fertige Milchsäure-Alanin-Ktenat wird mit Dichlormethan gewaschen und dann ohne weitere Reinigung zusammen mit der Substanz von Interesse in einem angemessenen Volumen Benzylalkohol gelöst. Die Lösung wird über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert, dann mit Wasser gesättigt und schließlich in einem größeren Volumen Wasser aufgenommen. Ohne weitere mechanische Behandlung (Ultraschall) lösen sich die Tröpfchen der organischen Phase innerhalb von wenigen Stunden auf und bilden eine homogene Suspension von substanzbeladenen Ktenat-Partikeln.

45 [0101] Aufgrund der langgestreckten Form der Ktenat-Partikel sind Aussagen über die Dimensionen der Partikelpopulation naturgemäß schlecht zu treffen, jedoch konnte mit dem QELS-Verfahren gezeigt werden, daß > 95% der Masse einer-typischen Präparation-(unfiltriert)-in Form von Partikeln im Submikrometerbereich vorliegen.

50

## Beispiel 2

### Herstellung der Aktinosphären und Akanthosphären

#### a) Allgemeine Anmerkungen

55

[0102] Sowohl in Aktinosphären als auch in Akanthosphären bestehen die weiteren Komponenten aus einem bifunktionalen Linker, insbesondere einem Polyethylenlykoholmolekül, das am einen Ende eine aminoreaktive Gruppe trägt, am anderen Ende eine davon verschiedene Gruppe mit anderer Reaktivität. Durch dieses bifunktionale Polyethylenlykohol werden einerseits die Partikel durch sterische Blockade der Oberfläche mit einem inerten Molekül dem Zugriff des Immunsystems entzogen (ähnliches wurde im Zusammenhang mit Liposomen unter der Bezeichnung "Stealth-Technik" erprobt) und überdies weiter stabilisiert, zum anderen wird die Möglichkeit geboten, weitere Moleküle, die die eigentliche Zielspezifität vermitteln, in räumlich günstiger und flexibler Position an die Partikel anzufügen. Bei diesen Molekülen kann es sich um Mikromoleküle handeln, z. B. Zucker, in welchem Fall eine ausschließliche Verwendung des bifunktionalen Polyethylenlykohols möglich ist (Aktinosphären), oder um Makromoleküle wie etwa Antikörper (Akanthosphären), in welchem Fall es aus sterischen Gründen ratsam ist, nur einen kleinen Teil der funktionalen Gruppen auf der Partikeloberfläche mit bifunktionalem Polyethylenlykohol umzusetzen und den übrigen durch monofunktionales Polyethylenlykohol, das dann alleine der physikalischen und immunologischen Stabilisierung der Partikel dient, abzusättigen.

# DE 101 18 852 A 1

## b) Konkrete Durchführung anschließend an Beispiel 1

[0103] Zur Unterdrückung von Immunreaktionen wurden die fertigen Bdellozomen gemäß Beispiel 1 über die funktionalen Oberflächengruppen kovalent mit "Stacheln" aus Polyethylenglykol (MW ~3400 Da) verknüpft, an deren distalen Enden wiederum Antikörper oder andere für das Targeting verwendbare Moleküle angefügt werden können. 5

[0104] Konjugation der Partikel mit "Stacheln" aus NHS-Ester-PEG erfolgt durch einfaches Mischen und Inkubation bei Raumtemperatur, vorzugsweise in schwach basischen Medium, gefolgt von Dialyse gegen das 500fache Volumen Wasser (bei einem MWCO von 12–14 kDa können sowohl ungebundene PEG-Stacheln als auch unkonjugierte Ktenat-Partikel, nicht jedoch Ktenat-PEG-Konjugate entweichen) zur Reinigung. 10

[0105] Bei Verwendung von bifunktionalen NHSeester-PEG-Vinylsulfon-Stacheln schließt sich die sekundäre Konjugation des Ktenat-PEG-Komplexes mit den "Sucher"-Proteinen an, gefolgt von Absättigung der eventuell noch freien Kopplungsgruppen mit Cystein (ca. 1 mg Cystein pro mg PEG entsprechend einem 20–30-fachen molaren Überschuß) und einem zweiten Aufreinigungsschritt durch erneute Dialyse, diesmal unter Verwendung einer Dialysemembran mit entsprechend höherem MWCO. 15

[0106] Insgesamt ist es abschließend zu empfehlen, noch ungesättigte, freie Kopplungsgruppen mit Cystein oder einem anderen SH-Reagenz abzusättigen. Damit empfiehlt es sich, nach dem Umsetzen der Bdellozomen-PEG-Konjugate mit den "Sucher"-Molekülen eventuell noch freie Kopplungsgruppen an den distalen Enden der PEG-Stacheln mit einem hohen molaren Überschuß eines geeigneten Reaktionspartners abzusättigen, im Fall von Vinylsulfon z. B. Cystein. Auf diese Weise wird verhindert, daß im Organismus diese Kopplungsgruppen mit körpereigenen Molekülen (z. B. Serumproteinen) reagieren und somit die Zielspezifität verfälscht wird. 20

[0107] Bei Verwendung der langsam reagierenden, relativ wasserstabilen Vinylsulfongruppe als distale Reaktionsgruppe der PEG-Stacheln ist es möglich, diese thiophilen (Ktenat-)Partikel für alle Anwendungen in einem vereinheitlichten Standardverfahren herzustellen und erst nach der Aufreinigung mit den geeigneten "Suchermolekülen" zu verbinden, welche beliebiger chemischer Natur sein können und lediglich eine Sulfhydrylgruppe besitzen müssen, so daß Aktinosphären und Akanthosphären hergestellt werden können. Bei Akanthosphären ist eine einfache Inprozeßkontrolle des letzten Verknüpfungsschrittes durch Zugabe von fluoreszenzmarkierten oder selber fluoreszierenden Proteinen (GFP) oder durch Western-Blot von Stichproben möglich, bei Aktinosphären durch Nachweis in der Dünnschichtchromatographie. 25

## Beispiel 3

30

### Eigenschaften von nach Beispiel 1 hergestellten Bdellozomen

[0108] Stabilität und Verpackungseffizienz von Bdellozomen sind im Vergleich zu anderen kolloidalen Verpackungssystemen außerordentlich hoch. Die Beladungseffizienz wurde am Beispiel des bereits klinisch eingesetzten Cytostatikums Daunomycin untersucht. Es wurden mit der Modellsubstanz Daunomycin Verpackungsraten von über 80% des eingesetzten Materials erreicht. Bei Verwendung eines kleinen Anteils von  $^3\text{H}$ -markiertem Daunomycin wurde eine Ausbeute von bis zu 99% der eingesetzten Gesamtmenge erreicht. 35

[0109] Die Partikel zeigten auch nach mehrmonatiger Lagerung bei Raumtemperatur weder Zerfallserscheinungen noch Flocculation. Auch die sich aus der monomolekularen Partikelstruktur ergebende Einfachheit der Herstellung der Bdellozomen ist besonders hervorzuheben. Form und Größe der Partikel konnten nach schwacher Goldbedämpfung im Rasterelektronenmikroskop sichtbar gemacht werden und entsprachen den Erwartungen (s. Abb. 4); bei Verwendung von BSA, das mehrere freie Thiolgruppen besitzt, trat erwartungsgemäß eine leichte Vernetzung der Partikel ein. Bei über die funktionalen Oberflächengruppen kovalent mit "Stacheln" aus Polyethylenglykol (MW 3400) verknüpften Bdellozomen, an deren distalen Enden wiederum Antikörper oder andere für das Targeting verwendbare Moleküle angefügt werden können, wurde eine Verringerung der unerwünschten Aufnahme der Partikel durch das retikuloendothiale System am Rattenmodell gezeigt. 40 45

## Beispiel 4

50

### Effektivität von nach Beispiel 2 hergestellten Bdellozomen/Bekämpfung des parasitischen Einzellers *Trypanosoma brucei* durch mit Daunomycin beladene Akanthosphären

#### a) Zur Auswahl des Modellorganismus

55

[0110] *Trypanosoma brucei brucei* ist ein protozoischer (Ord. Kinetoplastida) Parasit, der selber nicht humanpathogen ist, jedoch sowohl durch die von ihm hervorgerufene Nagana-Seuche des afrikanischen Nutzviehs von unmittelbarer volkswirtschaftlicher Bedeutung ist als auch als Labormodell für die Bekämpfung der nahe verwandten humanpathogenen Formen *Trypanosoma cruzi* (Chagas-Krankheit, > 20 Mio. Infizierte in Südamerika), *Trypanosoma brucei gambiense* und *Trypanosoma brucei rhodesiense* (Schlafkrankheit, große Prävalenz in der zentralafrikanischen Bevölkerung) sowie einiger kleinerer Trypanosomen-Spezies (*T. equinum*, *T. equiperdum*, *T. evansi*) sowie der nahverwandten Leishmanien (*Leishmania donovani*, Erreger der Kala-Azar oder Eingeweideleishmaniose; *L. tropica*, Verursacher der Orientbeule; *L. brasiliensis*, Schleimhaut-Leishmaniose) herangezogen werden kann. 60

[0111] Die Behandlung parasitärer Protozoen ist generell schwierig und basiert vorwiegend auf Suramin, Pentamidin und organischen Arsen- und Antimon-Verbindungen wie Melarsoprol und Stibophen, deren Verträglichkeit in den zur Therapie benötigten Konzentrationen schlecht ist. Überdies gehen die Trypanosomen im Spätstadium der Infektion ins ZNS über, wo sie durch die Blut-Hirn-Schranke des Wirtes einer Chemotherapie weitgehend entzogen werden. Trypanosomen eignen sich daher doppelt als Modell, zum einen für direktes Targeting, zum anderen für Transfer über die Blut- 65

Hirn-Schranke. Nachfolgend wird direktes Targeting beschrieben.

[0112] Trypanosomen entziehen sich dem Immunsystem ihres Wirtes durch rekombinative Variation ihrer Zelloberflächenproteine, von der nur einige Rezeptoren (u. a. für Transferrin und Albumin) ausgenommen sind, welche jedoch so in Vertiefungen der Zelloberfläche positioniert sind, daß daran bindende Antikörper keine zur Zerstörung der Parasitenzelle 5 führende Immunreaktionen initiieren können. Es ist jedoch prinzipiell möglich, mit Zellgiften beladene Bdellosomen mit Liganden für diese Rezeptoren zu koppeln und solchermaßen endocytiert zu lassen.

## b) Herstellung der Akanthosphären auf Basis der Bdellosomen

10 [0113] Sowohl für Bindungs- als auch Cytotoxizitätsstudien wurden Bdellosomensuspensionen (0,5 g Milchsäure-Alanin-Ktenat 4000, 100 pro Liter) mit einer Beladung von 1% (m/m) Daunomycin verwendet (entsprechend einer Konzentration von  $10^{-5}$  mol Daunomycin pro 1 Suspension), das eine Tritiummarkierung von ca. 1000 cpm/µg aufwies. Freies Daunomycin führt ab einer Konzentration von  $10^{-7}$  mol im Medium zu Behinderung des Wachstums von Trypanosomen.

15 [0114] Herstellung der Partikel fand wie unter Beispiel 1 beschrieben statt. Die Bdellosomen wurden gemäß Beispiel 1 über ihre oberflächenständigen Aminogruppen entweder mit monofunktionalem PEG verknüpft oder über bifunktionales (NHS-Ester-/Vinylsulfon-)PEG mit einem mittleren Molekulargewicht von 3400 Da mit Cysteinresten verschiedener Proteine gekoppelt: humanes Transferrin in verschiedenen Konzentrationen, Rinderserumalbumin und single-chain-Antikörper gegen den Transferrinrezeptor. Abschließend wurden freie Kopplungsgruppen mit Cystein abgesättigt.

20

## c) Bindungsstudien

25 [0115] Jeweils  $\sim 3 \cdot 10^5$  in gutem Wachstum befindliche Parasiten wurden 20 min lang bei Raumtemperatur mit einem 1 : 1-Gemisch einer der oben beschriebenen Bdellosomensuspensionen und Wachstumsmediums inkubiert, dann wurde der Überstand abgezogen, die Zellen wurden in isotoner Kochsalzlösung gewaschen und schließlich in frischer Salzlösung aufgenommen. Die Tritiumaktivitäten in Überstand, Waschpuffer und zellulärer Fraktion wurden durch Szintillationszählung bestimmt.

30

## d) Cytotoxizitätsstudien

35 [0116] Jeweils 10 µl der oben beschriebenen Bdellosomensuspensionen wurden einer Suspension von  $\sim 10^5$  in gutem Wachstum befindlichen Parasiten in frischem Nährmedium zugesetzt (so daß eine Endkonzentration von  $10^{-7}$  mol erreicht wurde) und über Nacht unter Wachstumsbedingungen inkubiert, nach 24 Stunden ausgezählt, und die Zellzahlen der Parasiten wurden mit denen der lediglich mit isotoner Kochsalzlösung behandelten Kontrollen verglichen.

35

## e) Konklusion

40 [0117] Die Ergebnisse der Bindungs- und Cytotoxizitätsstudien zeigen eine Korrelation zwischen Cytotoxizität und Bindung von > 97%. Die am stärksten bindende Fraktion (mit Antikörpern verbundene Bdellosomen) verringerte die Zelldichte der Parasiten auf ein Viertel der nur mit isotoner Kochsalzlösung behandelten Kontrolle, d. h., es wurde ein ausgeprägter cytotoxischer Effekt beobachtet. In Abwesenheit von "Sucher"-Proteinen hingegen waren bei gleicher Daunomycinkonzentration weder Bindung noch Cytotoxizität zu beobachten.

45

## Patentansprüche

1. Monomolekulare solide Partikel zum Transport hydrophober oder hydrophobisierter Wirkstoffe enthaltend

a) ein unverzweigtes oder maximal dreimal verzweigtes Molekülrückgrat aus einem aus Monomeren aufgebauten Polymer mit mindestens einer Bindungsgruppe (x) an jedem Monomer, wobei an die Bindungsgruppen (x) jeweils kovalent über eine (x)-(x')-Bindung

b) polykondensierte Molekülseitenketten aufgebaut aus kettenbildenden Monomeren mit jeweils mindestens einer Bindungsgruppe (y) und mindestens einer Bindungsgruppe (x') oder aufgebaut aus verschiedenen kettenbildenden Monomeren, wovon ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y) und ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') aufweist, oder aufgebaut aus verschiedenen kettenbildenden Monomeren, wovon ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y), ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') und ein weiteres mindestens eine Bindungsgruppe (y) und mindestens eine Bindungsgruppe (x') aufweist, wobei (x') eine kovalente Bindung mit (x) und auch eine kovalente Bindung mit (y) eingehen kann, binden, wobei jeweils am Ende der Molekülseitenketten kovalent über eine (y)-(y')-Bindung

c) Seitenkettenendstücke, die mindestens eine Bindungsgruppe (y'), keine Bindungsgruppe (y) und mindestens eine gegebenenfalls mit einer Schutzgruppe versehene freie Gruppe (z) aufweisen, gebunden sind,

60 wobei

das molare Verhältnis zwischen den Monomeren der Molekülseitenketten (b) und den Seitenkettenendstücken (c) << 1 ist,

die Gruppe y ≠ der Gruppe z und die Gruppe x' ≠ der Gruppe z ist,

das molare Verhältnis zwischen den Monomeren des Molekülrückgrats und den Seitenkettenendstücken (c) etwa äquimolar ist,

x, x', y und y' unabhängig voneinander ausgewählt sind aus OH, SH, COOH oder N/H<sub>2</sub> unter der Bedingung, daß x/x', x'/y bzw. y/y' entsprechende Bindungspaare x/x', x'/y bzw. y/y' (mit der entsprechenden Bindung) ausgewählt aus OH/COOH (Ester-Bindung -O-C(O)-), NH<sub>2</sub>/COOH (Amid-Bindung -NH-C(O)-), SH/COOH (Thio-Ester-Bin-

# DE 101 18 852 A 1

dung -S-C(O)-), COOH/OH (Ester-Bindung -O-C(O)-), COOH/NH<sub>2</sub> (Amid-Bindung -NH-C(O)-) oder COOH/SH (Thio-Ester-Bindung -S-C(O)-) bilden und

z ausgewählt ist aus CH<sub>3</sub>, OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> sowie der Vinyl- oder Epoxy-Gruppe gegebenenfalls geschützt durch eine Schutzgruppe.

2. Partikel gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Partikel nichtkovalent gebundenen, hydrophoben oder hydrophobisierten pharmazeutischen Wirkstoff enthalten.

3. Monomolekulare solide Partikel zum Transport hydrophober oder hydrophobisierte Wirkstoffe herstellbar nach einem Verfahren, in dem unverzweigtes oder maximal dreimal verzweigtes Polymerrückgrat aufgebaut aus Monomeren mit jeweils mindestens einer Bindungsgruppe (x) an jedem Monomer mit

a) kettenbildenden Seitenketten-Monomeren mit jeweils mindestens einer Bindungsgruppe (y) und mindestens einer Bindungsgruppe (x'), wobei (x') sowohl eine kovalente Bindung mit (x) als auch mit (y) eingehen kann,

b) einer Mischung aus kettenbildenden Seitenketten-Monomeren, wovon mindestens ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y) und mindestens ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') aufweist, wobei (x') sowohl eine kovalente Bindung mit (x) als auch mit (y) eingehen kann, oder

c) einer Mischung aus kettenbildenden Seitenketten-Monomeren, wovon mindestens ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y), mindestens ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') und mindestens ein weiteres Monomer mindestens eine Bindungsgruppe (y) und mindestens eine Bindungsgruppe (x') aufweist, wobei (x') sowohl eine kovalente Bindung mit (x) als auch mit (y) eingehen kann,

sowie mindestens einem Seitenkettenendstück, mit mindestens einer Bindungsgruppe (y'), ohne Bindungsgruppe (y) und mit mindestens einer gegebenenfalls mit einer Schutzgruppe versehenen freien Gruppe (z), wobei (y') eine kovalente Bindung mit (y) eingehen kann,

unter Bedingungen, die eine Bindung zwischen den Monomeren bzw. Monomeren-Gemischen der Seitenketten und dem Polymerrückgrat sowie den Kettenendstücken und auch eine Polykondensation der Monomeren bzw. Monomeren-Gemischen der Seitenketten erlauben, in Kontakt gebracht wird,

wobei

das molare Verhältnis zwischen den Monomeren der Molekülseitenketten (b) und den Seitenkettenendstücken (c) << 1 ist,

die Gruppe y ≠ der Gruppe z und die Gruppe x' ≠ der Gruppe z ist,

das molare Verhältnis zwischen den Monomeren des Molekülrückgrats und den Seitenkettenendstücken (c) etwa äquimolar ist,

x, x', y und y' unabhängig voneinander ausgewählt sind aus OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> unter der Bedingung, daß x/x', x'/y bzw. y/y' entsprechende Bindungspaare x/x', x'/y bzw. y/y' (mit der entsprechenden Bindung) ausgewählt aus OH/COOH (Ester-Bindung -O-C(O)-), NH<sub>2</sub>/COOH (Amid-Bindung -NH-C(O)-), SH/COOH (Thio-Ester-Bindung -S-C(O)-), COOH/OH (Ester-Bindung -O-C(O)-), COOH/NH<sub>2</sub> (Amid-Bindung -NH-C(O)-) oder COOH/SH (Thio-Ester-Bindung -S-C(O)-) bilden,

z ausgewählt ist aus CH<sub>3</sub>, OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> sowie der Vinyl- oder Epoxy-Gruppe, gegebenenfalls geschützt durch eine Schutzgruppe, und

die Seitenketten-Monomere als reine Monomere oder Derivate wie intramolekulare Anhydride oder Lactone eingesetzt werden können, solange sie noch mit sich und/oder anderen Seitenketten-Monomeren Ketten bilden können.

4. Monomolekulare solide Partikel zum Transport hydrophober oder hydrophobisierte Wirkstoffe herstellbar nach einem Verfahren, in dem unverzweigtes oder maximal dreimal verzweigtes Polymerrückgrat aufgebaut aus Monomeren mit jeweils mindestens einer Bindungsgruppe (x) an jedem Monomer mit

polykondensierten Molekülseitenketten aufgebaut aus Monomeren mit jeweils mindestens einer Bindungsgruppe (y) und mindestens einer Bindungsgruppe (x') oder aufgebaut aus verschiedenen Monomeren, wovon ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y) und ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') aufweist, oder aufgebaut aus verschiedenen Monomeren, wovon ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y), ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') und ein weiteres mindestens eine Bindungsgruppe (y) und mindestens eine Bindungsgruppe (x') aufweist, wobei (x') eine kovalente Bindung sowohl mit (x) als auch mit (y) eingehen kann, wobei jeweils am Ende der Molekülseitenketten kovalent über eine (y)-(y')-Bindung Seitenkettenendstücke, die mindestens eine Bindungsgruppe (y'), keine Bindungsgruppe (y) und mindestens eine gegebenenfalls mit einer Schutzgruppe versehene freie Gruppe (z) aufweisen, wobei (y') eine kovalente Bindung mit (y) eingehen kann, gebunden sind,

unter Bedingungen, die eine Bindung zwischen den polykondensierten Molekülseitenketten und dem Polymer erlauben, in Kontakt gebracht wird,

wobei

das molare Verhältnis zwischen den Monomeren der Molekülseitenketten (b) und den Seitenkettenendstücken (c) << 1 ist,

die Gruppe y ≠ der Gruppe z und die Gruppe x' ≠ der Gruppe z ist,

das molare Verhältnis zwischen den Monomeren des Molekülrückgrats und den Seitenkettenendstücken (c) etwa äquimolar ist,

x, x', y und y' unabhängig voneinander ausgewählt sind aus OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> unter der Bedingung, daß x/x', x'/y bzw. y/y' entsprechende Bindungspaare x/x', x'/y bzw. y/y' (mit der entsprechenden Bindung) ausgewählt aus OH/COOH (Ester-Bindung -O-C(O)-), NH<sub>2</sub>/COOH (Amid-Bindung -NH-C(O)-), SH/COOH (Thio-Ester-Bindung -S-C(O)-), COOH/OH (Ester-Bindung -O-C(O)-), COOH/NH<sub>2</sub> (Amid-Bindung -NH-C(O)-) oder COOH/SH (Thio-Ester-Bindung -S-C(O)-) bilden und

z ausgewählt ist aus CH<sub>3</sub>, OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> sowie der Vinyl- oder Epoxy-Gruppe gegebenenfalls geschützt durch eine Schutzgruppe.

# DE 101 18 852 A 1

5. Solide Partikel zum Transport gemäß einem der Ansprüche 3 oder 4, dadurch gekennzeichnet, daß das Inkontaktbringen in einem wasserfreien organischen Lösungsmittel, vorzugsweise Pyridin stattfindet.

6. Solide Partikel zum Transport gemäß einem der Ansprüche 3 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß das Inkontaktbringen in Gegenwart von Thionylchlorid stattfindet.

5 7. Partikel gemäß einem der Ansprüche 3 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß gegebenenfalls Schutzgruppen abgespalten werden.

8. Partikel gemäß einem der Ansprüche 3 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß sich ein Waschschnitt, vorzugsweise mit Dichlormethan, anschließt.

9. Partikel gemäß einem der Ansprüche 3 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Produkt anschließend zusammen mit dem zu transportierenden hydrophoben oder hydrophobisierten pharmazeutischen Wirkstoff in einem wasserfreien organischen Lösungsmittel gelöst wird, dann die Lösung einige Zeit, vorzugsweise über Nacht, vorzugsweise bei Raumtemperatur, inkubiert wird, dann die Lösung mit Wasser gesättigt wird und anschließend die wassergesättigte Lösung in einem größeren Volumen Wasser gelöst wird, sich gegebenenfalls eine mechanische Behandlung anschließt und dann gegebenenfalls die Partikel gereinigt und isoliert werden.

10 10. Partikel gemäß Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß sich nach der Lösung der wassergesättigten Lösung in einem größeren Volumen Wasser keine mechanische Behandlung anschließt und/oder die Reinigung durch Dialyse vorzugsweise gegen  $H_2O$  stattfindet.

11. Partikel gemäß einem der Ansprüche 9 oder 10, dadurch gekennzeichnet, daß das wasserfreie organische Lösungsmittel sich in Wasser im Verhältnis Lösungsmittel : Wasser zwischen 1 : 10 und 1 : 50, vorzugsweise zwischen 1 : 20 und 1 : 40, insbesondere zwischen 1 : 20 und 1 : 30 löst, und/oder vorzugsweise ausgewählt ist aus: Methylenechlorid oder Benzylalkohol, vorzugsweise Benzylalkohol.

20 12. Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Polymerrückgrat unverzweigt oder maximal einmal verzweigt, vorzugsweise unverzweigt ist.

13. Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Monomere der Seitenkette jeweils maximal zwei Gruppen (y) und maximal zwei Gruppen (x') aufweisen und/oder

25 die Gruppe (y) in den Monomeren der Seitenkette der Gruppe (x) im Polymerrückgrat entspricht und/oder die Gruppe (x') in den Monomeren der Seitenkette der Gruppe (y') im Seitenketten-Endstück entspricht und/oder die Gruppe (z) ausgewählt ist aus den "freien Gruppen" OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> sowie der Vinyl- oder Epoxy-Gruppe gegebenenfalls geschützt durch eine Schutzgruppe,

30 die Monomere der Seitenkette jeweils maximal 2 bis 10 C-Atome, vorzugsweise 2 bis 6 C-Atome, insbesondere 2 bis 4 C-Atome, aufweisen und/oder

35 die Monomere der Seitenkette, die sowohl die Gruppe (y) als auch die Gruppe (x') aufweisen, entweder nur 1 Gruppe (y) und 1-2, vorzugsweise 1, Gruppen (x') oder nur 1 Gruppe (x') und 1-2, vorzugsweise 1, Gruppen (y) aufweisen und/oder

40 die Monomere der Seitenketten bis auf das Seitenkettenendstück identisch sind mit jeweils 1 Gruppe (y) und 1 Gruppe (x') oder die Monomere der Seitenketten bis auf das Seitenkettenendstück identisch monoton alternierend aufgebaut sind aus abwechselnd einem Monomer mit 2 Gruppen (x') und einem Monomer mit 2 Gruppen (y).

14. Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß das Polymerrückgrat ausgewählt ist aus

Polyvinylalkohol, Polyacrylsäure, Polyvinylamin, Polysaccharid oder Polyaminosäure, vorzugsweise Polyvinylalkohol oder Polyacrylsäure, insbesondere Polyvinylalkohol.

45 15. Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Monomere der Seitenkette ausgewählt sind aus

Hydroxycarbonsäuren, Aminosäuren, der Kombination aus Diaminen und Dicarbonsäuren oder der Kombination aus Diolen und Dicarbonsäuren, bzw. deren Derivaten, vorzugsweise Hydroxycarbonsäuren oder der Kombination aus Diolen und Dicarbonsäuren, bzw. deren Derivaten, insbesondere Hydroxycarbonsäuren wie Milchsäure, Glykolsäure, Weinsäure oder Zitronensäure bzw. deren Derivaten.

50 16. Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß die Seitenkettenendstücke ausgewählt sind aus

ungeschützten Aminosäuren, N-geschützten Aminosäuren, COOH-geschützten Aminosäuren, ungeschützten Aminoalkoholen, N-geschützten Aminoalkoholen, O-geschützten Aminoalkoholen, ungeschützten Thiolalkoholen, O-geschützten Thiolalkoholen, S-geschützten Thiolalkoholen oder ungeschützten Thiolsäuren, S-geschützten Thiolsäuren, COOH-geschützten Thiolsäuren, ungeschützten Thioaminen, S-geschützten Thioaminen oder N-geschützten Thioaminen, vorzugsweise

55 ungeschützten Aminosäuren, N-geschützten Aminosäuren, ungeschützten Aminoalkoholen, N-geschützten Aminoalkoholen, ungeschützten Thiolalkoholen, S-geschützten Thiolalkoholen oder ungeschützten Thiolsäuren, S-geschützten Thiolsäuren,

60 ungeschützten Aminosäuren, wie Alanin, N-geschützten Aminosäuren, wie N-FMOC- $\beta$ -Alanin, ungeschützten Thiolsäuren oder S-geschützten Thiolsäuren.

65 17. Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Polymerrückgrat, die Monomere der Seitenkette bzw. deren Derivate und das Seitenkettenendstück bzw. dessen Derivate ausgewählt sind aus einer der folgenden Kombinationen:

<b>Komb .-Nr.</b>	<b>Polymerrück- grat</b>	<b>Monomere der Sei- tenkette bzw. Deri- vat</b>	<b>Seitenketten- Endstück bzw. De- rivat</b>
	Polyvinylalkohol	Hydroxycarbonsäu- re	Ungeschützte Ami- nosäure
	Polyvinylalkohol	Hydroxycarbonsäu- re	N-geschützte Ami- nosäure

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

5	Polyvinylalkohol	Hydroxycarbonsäuren	Ungeschützte Thiolsäure
10	Polyvinylalkohol	Hydroxycarbonsäuren	S-geschützte Thiolsäure
15	Polyvinylalkohol	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	Ungeschützte Aminosäure
20	Polyvinylalkohol	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	N-geschützte Aminosäure
25	Polyvinylalkohol	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	Ungeschützte Thiolsäure
30	Polyvinylalkohol	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	S-geschützte Thiolsäure
35	Polyvinylalkohol	Aminosäure	Ungeschützte Thiolsäure
40	Polyvinylalkohol	Aminosäure	S-geschützte Thiolsäure
45	Polyvinylalkohol	Aminosäure	Ungeschützte Thiolsäure
50	Polyvinylalkohol	Aminosäure	S-geschützte Thiolsäure
55	Polyvinylalkohol	Aminosäure	Ungeschützte Thiolsäure

60

65

	Polyvinylalkohol	Kombination aus Diamin und Dicarbonsäure	Ungeschützte Thiolsäure	5
	Polyvinylalkohol	Kombination aus Diamin und Dicarbonsäure	S-geschützte Thiolsäure	10
	Polyacrylsäure	Hydroxycarbonsäure	Ungeschützter Aminoalkohol	15
	Polyacrylsäure	Hydroxycarbonsäure	N-geschützter Aminoalkohol	20
	Polyacrylsäure	Hydroxycarbonsäure	Ungeschützter Thioalkohol	25
	Polyacrylsäure	Hydroxycarbonsäure	S-geschützter Thioalkohol	30
	Polyacrylsäure	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	Ungeschützter Aminoalkohol	35
	Polyacrylsäure	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	N-geschützter Aminoalkohol	40
				45
				50
				55

5	Polyacrylsäure	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	Ungeschützter Thio- alkohol
10	Polyacrylsäure	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	S-geschützter Thio- alkohol
15	Polyacrylsäure	Aminosäure	ungeschützter Ami- noalkohol
20	Polyacrylsäure	Aminosäure	O-geschützter Ami- noalkohol
25	Polyacrylsäure	Aminosäure	Ungeschütztes Thio- amin
30	Polyacrylsäure	Aminosäure	S-geschütztes Thio- amin
35	Polyacrylsäure	Aminosäure	ungeschützter Ami- noalkohol
40	Polyacrylsäure	Kombination aus Diamin und Dicar- bonsäure	O-geschützter Ami- noalkohol
45	Polyacrylsäure	Kombination aus Diamin und Dicar- bonsäure	ungeschützter Ami- noalkohol
50	Polyacrylsäure	Kombination aus Diamin und Dicar- bonsäure	O-geschützter Ami- noalkohol
55	Polyacrylsäure	Kombination aus Diamin und Dicar- bonsäure	ungeschützter Ami- noalkohol

60

65

	Polyacrylsäure	Kombination aus Diamin und Dicarbonsäure	Ungeschütztes Thio-amin	5
	Polyacrylsäure	Kombination aus Diamin und Dicarbonsäure	S-geschütztes Thio-amin	10
	Polyvinylamin	Hydroxycarbonsäuren	Ungeschützte Aminosäure	15
	Polyvinylamin	Hydroxycarbonsäuren	N-geschützte Aminosäure	20
	Polyvinylamin	Hydroxycarbonsäuren	Ungeschützte Thiolsäure	25
	Polyvinylamin	Hydroxycarbonsäuren	S-geschützte Thiolsäure	30
	Polyvinylamin	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	Ungeschützte Aminosäure	35
	Polyvinylamin	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	N-geschützte Aminosäure	40
				45
				50
				55

5	Polyvinylamin	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	Ungeschützte Thiol- säure
10	Polyvinylamin	Kombination aus Diol und Dicarbon- säure	S-geschützte Thiol- säure
15	Polyvinylamin	Aminosäure	Ungeschützte Thiol- säure
20	Polyvinylamin	Aminosäure	S-geschützte Thiol- säure
25	Polyvinylamin	Kombination aus Diamin und Dicar- bonsäure	Ungeschützte Thiol- säure
30	Polyvinylamin	Kombination aus Diamin und Dicar- bonsäure	S-geschützte Thiol- säure
35	Polyvinylamin	Hydroxycarbonsäu- re	Ungeschützte Ami- nosäure
40	Polysaccharid	Hydroxycarbonsäu- re	N-geschützte Ami- nosäure
45	Polysaccharid	Hydroxycarbonsäu- re	Ungeschützte Ami- nosäure
50			
55			

60

65

	Polysaccharid	Hydroxycarbonsäuren	Ungeschützte Thiolsäure	5
	Polysaccharid	Hydroxycarbonsäuren	S-geschützte Thiolsäure	10
	Polysaccharid	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	Ungeschützte Aminosäure	15
	Polysaccharid	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	N-geschützte Aminosäure	20
	Polysaccharid	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	Ungeschützte Thiolsäure	25
	Polysaccharid	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	S-geschützte Thiolsäure	30
	Polysaccharid	Aminosäure	Ungeschützte Thiolsäure	35
	Polysaccharid	Aminosäure	S-geschützte Thiolsäure	40

	Polysaccharid	Kombination aus Diamin und Dicarbonsäure	Ungeschützte Thiolsäure
10	Polysaccharid	Kombination aus Diamin und Dicarbonsäure	S-geschützte Thiolsäure
15	Polycystein	Hydroxycarbonsäuren	Ungeschützte Aminosäure
20	Polycystein	Hydroxycarbonsäuren	N-geschützte Aminosäure
25	Polycystein	Hydroxycarbonsäuren	Ungeschützte Thiolsäure
30	Polycystein	Hydroxycarbonsäuren	S-geschützte Thiolsäure
35	Polycystein	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	Ungeschützte Aminosäure
40	Polycystein	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	N-geschützte Aminosäure
45	Polycystein	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	
50	Polycystein	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	
55			

60

65

	Polycystein	Kombination aus Diol und Dicarbon-säure	Ungeschützte Thiolsäure	5
	Polycystein	Kombination aus Diol und Dicarbon-säure	S-geschützte Thiolsäure	10
	Polycystein	Aminosäure	Ungeschützte Thiolsäure	15
	Polycystein	Aminosäure	S-geschützte Thiolsäure	20
	Polycystein	Kombination aus Diol und Dicarbon-säure	Ungeschützte Thiolsäure	25
	Polycystein	Kombination aus Diol und Dicarbon-säure	S-geschützte Thiolsäure	30
	Polyserin	Hydroxycarbonsäure	Ungeschützte Aminosäure	35
	Polyserin	Hydroxycarbonsäure	N-geschützte Aminosäure	40
				45
				50
				55
				60
				65

5	Polyserin	Hydroxycarbonsäuren	Ungeschützte Thiolsäure
10	Polyserin	Hydroxycarbonsäuren	S-geschützte Thiolsäure
15	Polyserin	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	Ungeschützte Aminosäure
20	Polyserin	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	N-geschützte Aminosäure
25	Polyserin	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	Ungeschützte Thiolsäure
30	Polyserin	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	Ungeschützte Thiolsäure
35	Polyserin	Kombination aus Diol und Dicarbonsäure	S-geschützte Thiolsäure
40	Polyserin	Aminosäure	Ungeschützte Thiolsäure
45	Polyserin	Aminosäure	S-geschützte Thiolsäure
50	Polyserin	Aminosäure	Ungeschützte Thiolsäure
55	Polyserin	Aminosäure	S-geschützte Thiolsäure

60

65

	Polyserin	Kombination aus Diamin und Dicarbonsäure	Ungeschützte Thiolsäure
	Polyserin	Kombination aus Diamin und Dicarbonsäure	S-geschützte Thiolsäure

vorzugsweise

<b>Komb.-Nr.</b>	<b>Polymerrückgrat</b>	<b>Monomere der Seitenkette bzw. Derivat</b>	<b>Seitenketten-Endstück bzw. Derivat</b>
77	Polyvinylalkohol	Milchsäure	Ungeschützte Aminosäure
78	Polyvinylalkohol	Milchsäure	N-geschützte Aminosäure
79	Polyvinylalkohol	Milchsäure	$\beta$ -Alanin
80	Polyvinylalkohol	Milchsäure	N-FMOC- $\beta$ -Alanin

5	81	Polyvinylalkohol	Glykolsäure	Ungeschützte Aminosäure
10	82	Polyvinylalkohol	Glykolsäure	N-geschützte Aminosäure
15	83	Polyvinylalkohol	Glykolsäure	$\beta$ -Alanin
20	84	Polyvinylalkohol	Glykolsäure	N-FMOC- $\beta$ -Alanin
25	85	Polyvinylalkohol	Weinsäure	Ungeschützte Aminosäure
30	86	Polyvinylalkohol	Weinsäure	N-geschützte Aminosäure
35	87	Polyvinylalkohol	Weinsäure	$\beta$ -Alanin
40	88	Polyvinylalkohol	Weinsäure	N-FMOC- $\beta$ -Alanin
45	89	Polyvinylalkohol	Zitronensäure	Ungeschützte Aminosäure
50	90	Polyvinylalkohol	Zitronensäure	N-geschützte Aminosäure
55	91	Polyvinylalkohol	Zitronensäure	$\beta$ -Alanin
60	92	Polyvinylalkohol	Zitronensäure	N-FMOC- $\beta$ -Alanin

93	Polyacrylsäure	Milchsäure	Ungeschützter Ami- noalkohol	5
94	Polyacrylsäure	Milchsäure	N-geschützter Ami- noalkohol	10
95	Polyacrylsäure	Milchsäure	Aminoethanol	15
96	Polyacrylsäure	Milchsäure	N-FMOC-Colamin	20
97	Polyacrylsäure	Glykolsäure	Ungeschützter Ami- noalkohol	25
98	Polyacrylsäure	Glykolsäure	N-geschützter Ami- noalkohol	30
99	Polyacrylsäure	Glykolsäure	Aminoethanol	35
100	Polyacrylsäure	Glykolsäure	N-FMOC-Colamin	40
101	Polyacrylsäure	Weinsäure	Ungeschützter Ami- noalkohol	45
102	Polyacrylsäure	Weinsäure	N-geschützter Ami- noalkohol	50
103	Polyacrylsäure	Weinsäure	Aminoethanol	55
104	Polyacrylsäure	Weinsäure	N-FMOC-Colamin	60

5	105	Polyacrylsäure	Zitronensäure	ungeschützter Ami-noalkohol
10	106	Polyacrylsäure	Zitronensäure	N-geschützter Ami-noalkohol
15	107	Polyacrylsäure	Zitronensäure	Aminoethanol
20	108	Polyacrylsäure	Zitronensäure	N-FMOC-Colamin

insbesondere

25	Komb .-Nr.	Polymerrück- grat	Monomere der Sei- tenkette bzw. Deri- vat	Seitenketten- Endstück bzw. De- rivat
30	79	Polyvinylalkohol	Milchsäure	$\beta$ -Alanin
35	80	Polyvinylalkohol	Milchsäure	N-FMOC- $\beta$ -Alanin
40	95	Polyacrylsäure	Milchsäure	Aminoethanol
45	96	Polyacrylsäure	Milchsäure	N-FMOC-Colamin

45 18. Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß die Partikel eine Länge < 5  $\mu\text{m}$ , vorzugsweise < 3  $\mu\text{m}$ , insbesondere < 2  $\mu\text{m}$  und/oder eine Dicke und Breite von < 200 nm, vorzugsweise < 75 nm, insbesondere < 30 nm aufweisen.

50 19. Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß Linker-Moleküle, die eine reaktive Gruppe (z') ausgewählt aus Gruppen, die mit einer der Gruppen (z) ausgewählt aus den "freien Gruppen" (z) ausgewählt aus OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> sowie der Vinyl- oder Epoxy-Gruppe eine kovalente Bindung eingehen können, vorzugsweise eine amino- oder thiolreaktive Gruppe, insbesondere eine aminoreaktive Gruppe, aufweisen, kovalent über (z')-(z)-Bindungen mit auf der Oberfläche des Partikels vorliegenden Gruppen (z) ausgewählt aus den "freien Gruppen", an die Partikel gebunden sind.

55 20. Partikel gemäß Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, daß die Linker-Moleküle bifunktionell sind und neben der an das Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 18 bindenden reaktiven Gruppe (z') an einem anderen Ende des Moleküls auch eine weitere reaktive Gruppe (z''), ausgewählt aus reaktiven Gruppen, die mit einer der Gruppen (z) ausgewählt aus den "freien Gruppen" (z) ausgewählt aus OII, SII, COOII oder NII<sub>2</sub> sowie der Vinyl- oder Epoxy-Gruppe eine kovalente Bindung eingehen können, vorzugsweise eine thiolreaktive Gruppe, aufweisen, wobei z'  $\neq$  z'' ist.

60 21. Partikel gemäß einem der Ansprüche 19 oder 20, dadurch gekennzeichnet, daß die Linker-Moleküle eine Mischung bifunktioneller Moleküle gemäß Anspruch 20 und monofunktioneller Moleküle, die neben der an das Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 18 bindenden reaktiven Gruppe (z'), vorzugsweise der amino- oder thiolreaktiven, insbesondere der aminoreaktiven, Gruppe an keinem anderen Ende des Moleküls eine weitere, anders reaktive funktionelle Gruppe (z'') mit z'  $\neq$  z'' aufweisen, sind.

65 22. Partikel gemäß Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß an der Oberfläche der Partikel deutlich mehr, vorzugsweise mindestens 100% mehr, monofunktionelle als bifunktionelle Linker-Moleküle kovalent gebunden sind.

23. Partikel gemäß einem der Ansprüche 20 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß an die bifunktionellen Linker-

# DE 101 18 852 A 1

Moleküle bioaktive Makromoleküle oder "Sucher"-Moleküle, ausgewählt aus Peptiden, Proteinen; vorzugsweise Antikörpern, Antikörperfragmenten oder Antikörperderivaten mit zielbindenden Eigenschaften wie "Single-chain"-Antikörpern; Hormonen, Zuckern, vorzugsweise Glykosiden; synthetischen oder natürlichen Rezeptor-Liganden; Proteinen oder Peptiden mit einer freien Cysteingruppe oder Thiozuckern, über eine Bindung zur reaktiven Gruppe (z") angekoppelt sind, angekoppelt werden oder vor der Oberflächenmodifikation angekoppelt wurden.

24. Partikel gemäß einem der Ansprüche 20 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß an die bifunktionellen Linker-Moleküle bioaktive Makromoleküle oder "Sucher"-Moleküle, vorzugsweise Antikörper, Antikörperfragmente oder Antikörperderivate mit zielbindenden Eigenschaften wie "Single-chain"-Antikörper, insbesondere mit freier Cysteingruppe, über eine Bindung zur reaktiven Gruppe (z") angekoppelt sind, angekoppelt werden oder vor der Oberflächenmodifikation angekoppelt wurden.

25. Partikel gemäß Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, daß an die bifunktionellen Moleküle der Beschichtung bioaktive Mikromoleküle oder "Sucher"-Moleküle, vorzugsweise Zucker, insbesondere Thiozucker; Peptide oder Hormone, insbesondere mit freier Cysteingruppe, über eine Bindung zur reaktiven Gruppe (z") angekoppelt sind, angekoppelt werden oder vor der Oberflächenmodifikation angekoppelt wurden.

26. Partikel gemäß einem der Ansprüche 23 bis 25, dadurch gekennzeichnet, daß nach Bindung der bioaktiven Mikromoleküle oder "Sucher"-Moleküle noch freie reaktive Gruppen (z") abgesättigt werden, vorzugsweise mit Cystein.

27. Partikel gemäß Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, daß die Linker-Moleküle monofunktionelle Moleküle sind, die neben der an das Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 18 bindenden reaktiven Gruppe (z'), vorzugsweise der amino- oder thiolreaktiven Gruppe, insbesondere der aminoreaktiven Gruppe, an keinem anderen Ende des Moleküls eine weitere, anders reaktive Gruppe (z") mit  $z' \neq z''$  aufweisen.

28. Partikel gemäß einem der Ansprüche 19 bis 27, dadurch gekennzeichnet, daß die Linker-Moleküle Polyglykolate sind, vorzugsweise Polyethylenglykol-Derivate, insbesondere NHS-Ester-Polyethylenglykol oder NHS-Ester/Vinylsulfon-Polyethylenglykol.

29. Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 28, dadurch gekennzeichnet, daß der zu transportierende Wirkstoff ein synthetischer oder natürlicher Wirkstoff, ein Protein, Peptid, Lipid, Zucker oder Nukleinsäure bzw. ein niedermolekularer organischer oder hochmolekularer organischer Wirkstoff, beispielsweise ein Hormon, eine antineoplastische Substanz, ein Antibiotikum, Antimykotikum, Parasitizid, Virustatikum oder Antihelmintikum, eine cardio-vasculär-aktive Substanz; eine zentralwirksame Substanz, insbesondere ein Analgetikum, Antidepressivum oder Antiepileptikum; ist.

30. Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß er direkt oder über einen Linker; vorzugsweise über bifunktionelle Polyethylenglykol-Moleküle; verknüpft ist mit einem "Sucher"-Molekül ausgewählt aus:

Peptiden, Proteinen; vorzugsweise Antikörpern, Antikörperfragmenten oder Antikörperderivaten mit zielbindenden Eigenschaften wie "Single-chain"-Antikörpern; Hormonen, Zuckern, vorzugsweise Glykosiden; synthetischen oder natürlichen Rezeptor-Liganden; Proteinen oder Peptiden mit einer freien Cysteingruppe oder Thiozuckern.

31. Verfahren zur Herstellung eines Partikels gemäß einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß ein unverzweigtes oder maximal dreimal verzweigtes Polymerrückgrat (a) aufgebaut aus Monomeren mit jeweils mindestens einer Bindungsgruppe (x) an jedem Monomer mit

Seitenketten-Monomeren (b) mit jeweils mindestens einer Bindungsgruppe (y) und mindestens einer Bindungsgruppe (x'), wobei (x') eine kovalente Bindung sowohl mit (x) als auch mit (y) eingehen kann,

einer Mischung von Seitenketten-Monomeren (b), wovon mindestens ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y) und mindestens ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') aufweist, wobei (x') eine kovalente Bindung sowohl mit (x) als auch mit (y) eingehen kann, oder

einer Mischung von Seitenketten-Monomeren (b), wovon mindestens ein Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (y), mindestens ein anderes Monomer mindestens zwei Bindungsgruppen (x') und mindestens ein weiteres Monomer mindestens eine Bindungsgruppe (y) und mindestens eine Bindungsgruppe (x') aufweist, wobei (x') eine kovalente Bindung sowohl mit (x) als auch mit (y) eingehen kann,

sowie mindestens einem Seitenkettenendstück (c), mit mindestens einer Bindungsgruppe (y'), ohne Bindungsgruppe (y) und mit mindestens einer gegebenenfalls mit einer Schutzgruppe versehenen freien Gruppe (z), wobei

das molare Verhältnis zwischen den Monomeren der Molekülseitenketten (b) und den Seitenkettenendstücken (c)  $\ll 1$  ist,

die Gruppe y  $\neq$  der Gruppe z und die Gruppe x'  $\neq$  der Gruppe z ist,

das molare Verhältnis zwischen den Monomeren des Molekülrückgrats (a) und den Seitenkettenendstücken (c) etwa äquimolar ist,

x, x', y und y' unabhängig voneinander ausgewählt sind aus OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> unter der Bedingung, daß x/x', x'/y bzw. y/y' entsprechende Bindungspaare x/x', x'/y bzw. y/y' (mit der entsprechenden Bindung) ausgewählt aus OH/COOH (Ester-Bindung -O-C(O)-), NH<sub>2</sub>/COOH (Amid-Bindung -NH-C(O)-), SH/COOH (Thio-Ester-Bindung -S-C(O)-), COOH/OH (Ester-Bindung -O-C(O)-), COOH/NH<sub>2</sub> (Amid-Bindung -NH-C(O)-) oder COOH/SH (Thio-Ester-Bindung -S-C(O)-) bilden,

z ausgewählt ist aus CH<sub>3</sub>, OH, SH, COOH oder NH<sub>2</sub> sowie der Vinyl- oder Epoxy-Gruppe gegebenenfalls geschützt durch eine Schutzgruppe und

die Seitenketten-Monomere (b) als reine Monomere oder Derivate wie intramolekulare Anhydride oder Lactone eingesetzt werden können, solange sie noch mit sich und/oder anderen Seitenketten-Monomeren Ketten bilden können,

unter Bedingungen, die eine Bindung zwischen den Monomeren bzw. Monomeren-Gemischen der Seitenkette und dem Polymerrückgrat sowie den Seitenkettenendstücken als auch eine Polykondensation der Monomeren bzw. Mo-

# DE 101 18 852 A 1

nomeren-Gemischen der Seitenkette erlauben, in Kontakt gebracht wird, gegebenenfalls in einem wasserfreien organischen Lösungsmittel, vorzugsweise Pyridin, gegebenenfalls in Gegenwart von Thionylchlorid und anschließend gegebenenfalls gereinigt, vorzugsweise durch Dialyse gegen  $H_2O$ , und gegebenenfalls isoliert wird

5 sowie gegebenenfalls anschließend die Partikel mit dem zu transportierenden hydrophoben oder hydrophobisierten Wirkstoff in einem wasserfreien organischen Lösungsmittel gelöst werden, dann die Lösung einige Zeit, vorzugsweise über Nacht, vorzugsweise bei Raumtemperatur, inkubiert wird, dann die Lösung mit Wasser gesättigt wird und anschließend die wassergesättigte Lösung in einem größeren Volumen Wasser gelöst wird, sich gegebenenfalls eine mechanische Behandlung anschließt und dann gegebenenfalls die Partikel gereinigt, vorzugsweise durch Dialyse gegen  $H_2O$ , und isoliert werden.

10 32. Verfahren zur Herstellung eines Partikels gemäß einem der Ansprüche 19 bis 29, dadurch gekennzeichnet, daß man ein Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 18 enthaltend eine Gruppe (z) ausgewählt aus den freien Gruppen mit einem Linker-Molekül enthaltend eine reaktive Gruppe (z'), die mit der Gruppe (z) eine kovalente Bindung eingehen kann, unter zur Ausbildung dieser kovalenten Bindung geeigneten Bedingungen in Kontakt bringt und gegebenenfalls anschließend die Partikel reinigt, vorzugsweise durch Dialyse gegen  $H_2O$ , und isoliert.

15 33. Verfahren zur Herstellung eines Partikels gemäß einem der Ansprüche 23 bis 25, dadurch gekennzeichnet, daß man in Anschluß an das Verfahren nach Anspruch 32 danach hergestellte Partikel, die an bifunktionellen Linker-Molekülen eine freie reaktive Gruppe (z") aufweisen mit bioaktiven Makromolekülen oder "Sucher"-Molekülen gemäß einem der Ansprüche 23 bis 25 unter zur Ausbildung einer Bindung zwischen der Gruppe (z") und den bioaktiven Makromolekülen oder "Sucher"-Molekülen unter geeigneten Bedingungen in Kontakt bringt und gegebenenfalls anschließend die Partikel reinigt, vorzugsweise durch Dialyse gegen  $H_2O$ , und isoliert.

20 34. Arzneimittel enthaltend Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 30 sowie gegebenenfalls geeignete Zusatz- und/oder Hilfsstoffe.

25 35. Diagnostikum enthaltend Partikel gemäß einem der Ansprüche 1 bis 30 sowie gegebenenfalls geeignete Zusatz- und/oder Hilfsstoffe.

30 36. Verwendung von Partikeln gemäß einem der Ansprüche 1 bis 30 zur Herstellung eines Arzneimittel zur Krebsbehandlung, zur Behandlung von Infektionskrankheiten und Parasiten, zur Behandlung von Krankheiten und Symptomen mit zentralnervöser Ursache, zur Verwendung in der Gentherapie oder für genomisches Targeting.

35 Hierzu 6 Seite(n) Zeichnungen

40

45

50

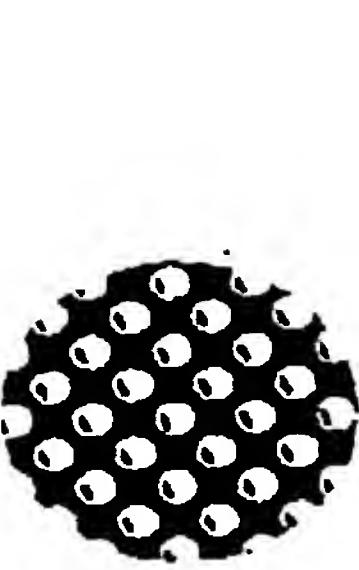
55

60

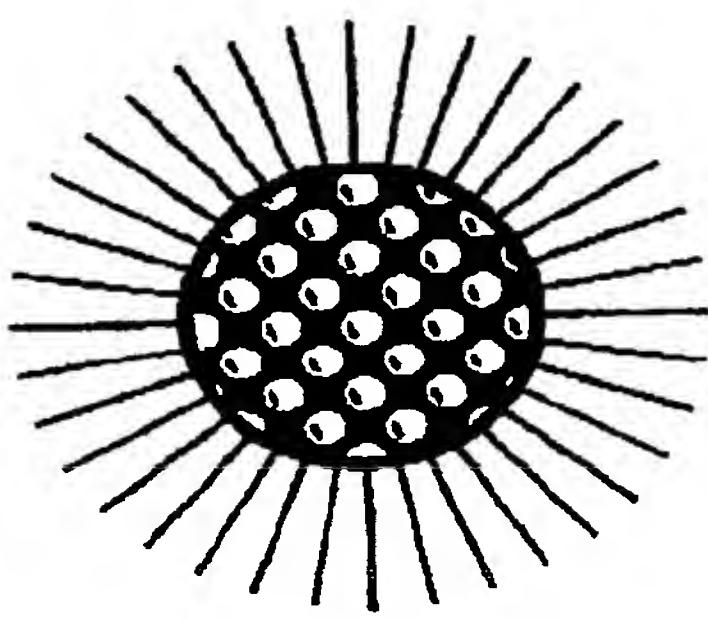
65

## Abbildung 1.

einfach:



Einfaches Nanopartikel



Stealth-Nanopartikel

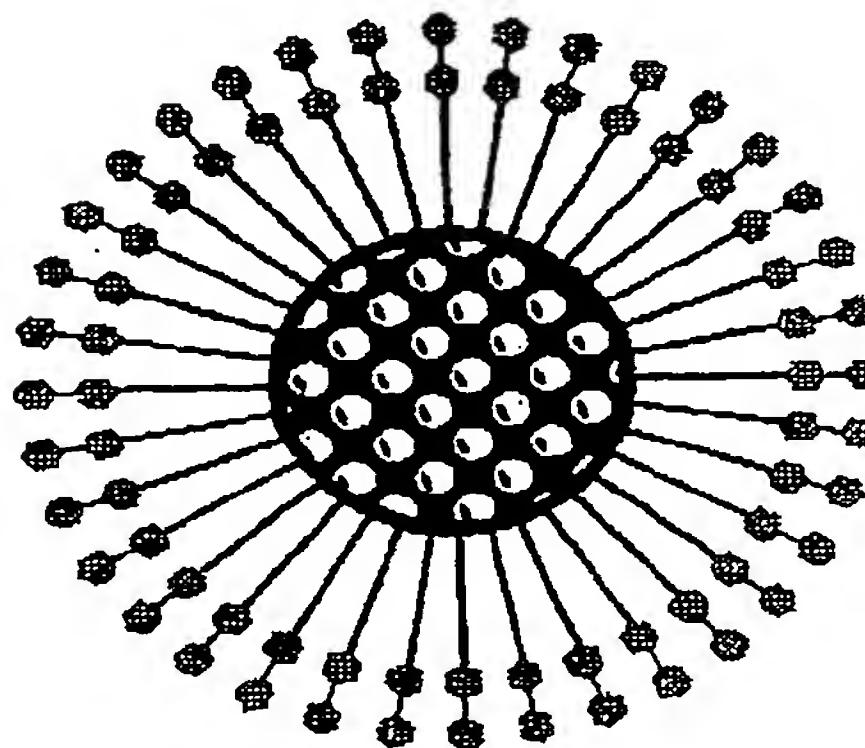
Matrix + Substanz

— Polyethylenglykol

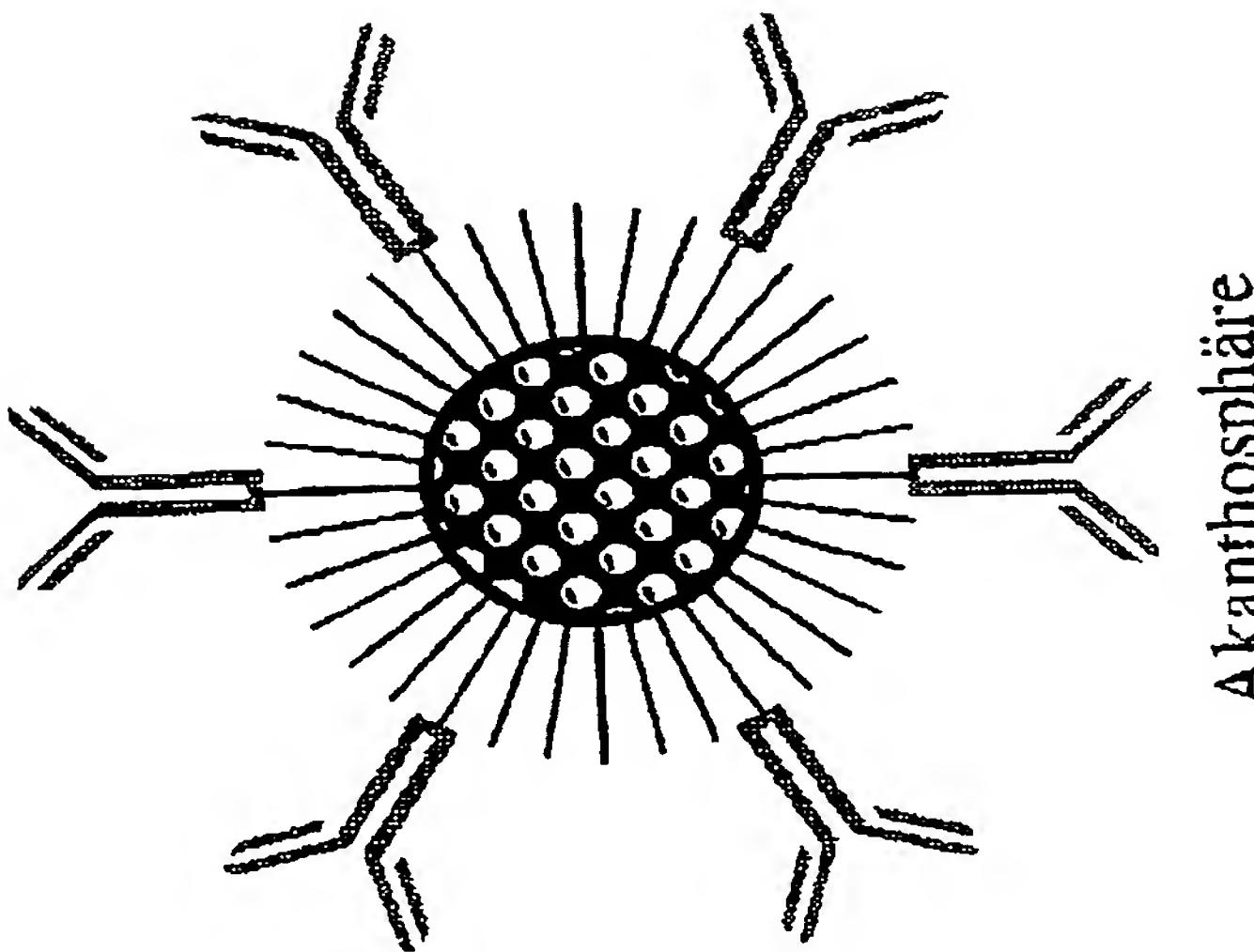
• Zucker

Y Antikörper

zielsuchend:



Aktinosphäre



Akanthosphäre

## Abbildung 2a.

- NH-FMOC
- OH
- COOH
- $C_nH_m$
- NH oder andere geschützte Gruppe

## Veresterung:

# Alkohol Säure

# Wasser Ester



-COOH

oder andere geschützte Gruppe

# Wasser Ester

## Alkohol säure

oder andere geschützte Gruppe

## Polykondensation bisfunktionaler Monomere:

## Ketenatbildung ( $a=10, b=4$ ):

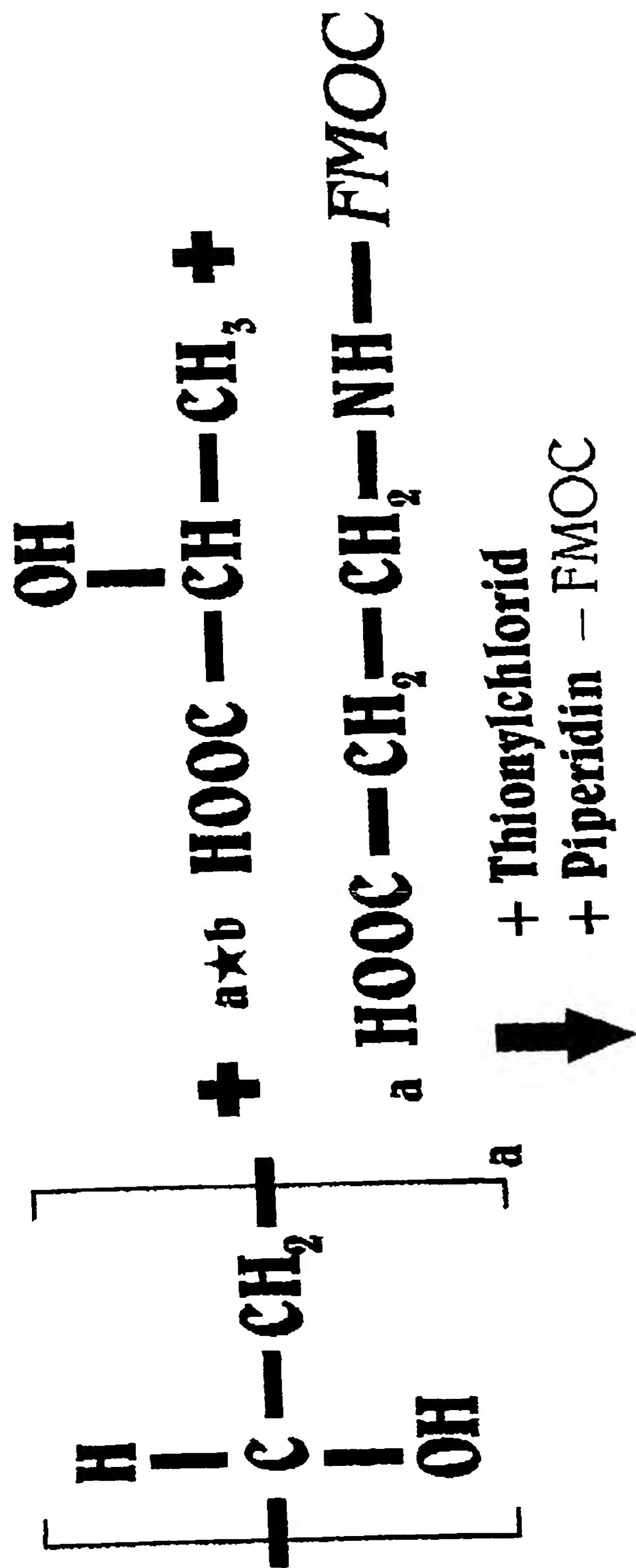
A vertical strip of black material, likely a film strip or a piece of tape, with a series of white rectangular marks along its edge, resembling a barcode or a film strip.

$$+ 4*10$$

# Hydroxysäure terminale Säure mit funktionaler Gruppe

Ktenat + 50 >

## Abbildung 2b.



Das resultierende Molekül ( $a \sim 4000$ ,  $b \sim 100$ ) hat eine kammförmige Architektur, die zu einer “Flaschenbürsten”-Form führt. Es ist imstande, ohne zusätzliches Schutzkolloid monomolekulare Partikel mit einem MW von  $>30'000$  kDa zu bilden, zwischen deren Seitenketten nieder-molekulare Substanzen eingefangen werden können. Die exponierten Aminogruppen dieser Partikel können mit NHS-Ester reagieren und auf diese Weise mit PEG-Stacheln verknüpft werden.

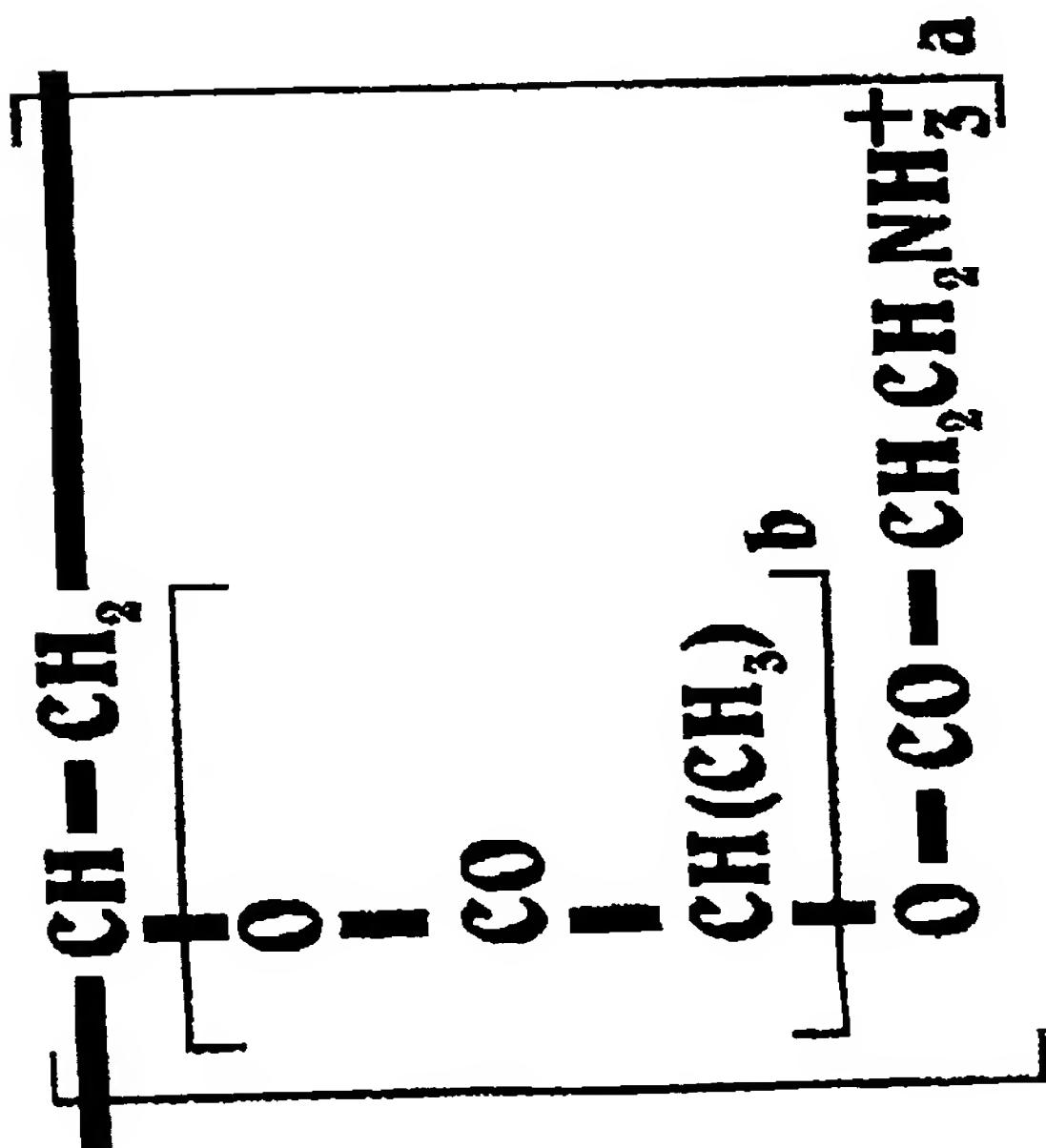
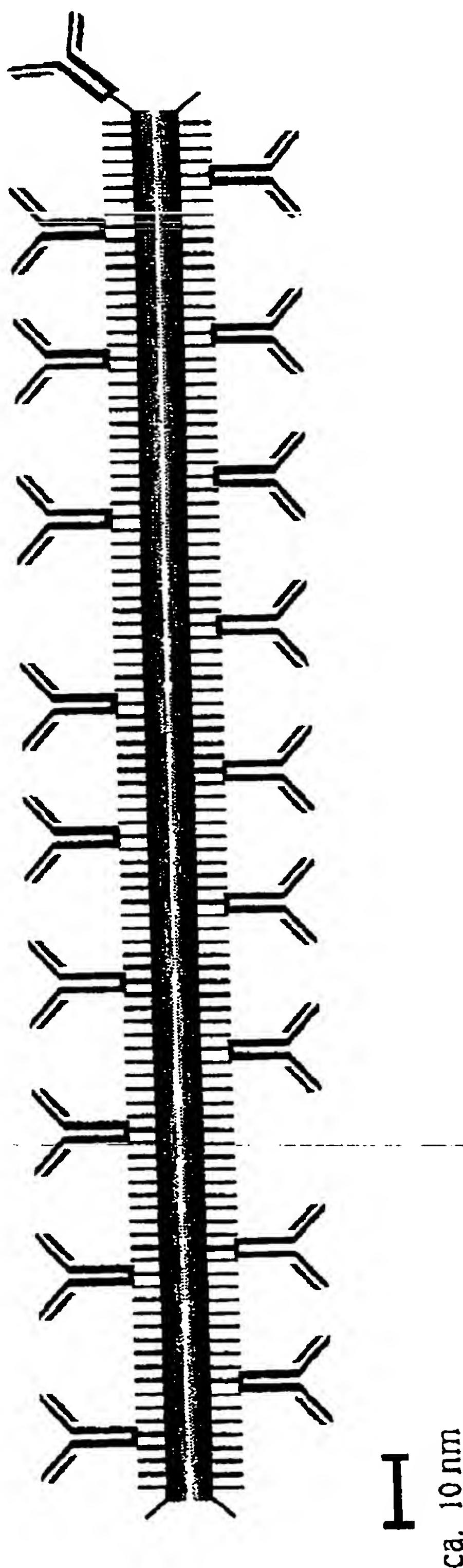


Abbildung 3.

Bdelloson aus Milchsäure- $\beta$ -Alanin-Ktenat<sub>(4000, 100)</sub>Stachellänge:  $\sim$ 20 nmLänge:  $\sim$ 1800 nm $\varnothing$ : unbeladen  $\sim$ 4 nm

Beladungseffizienz: bis 80%

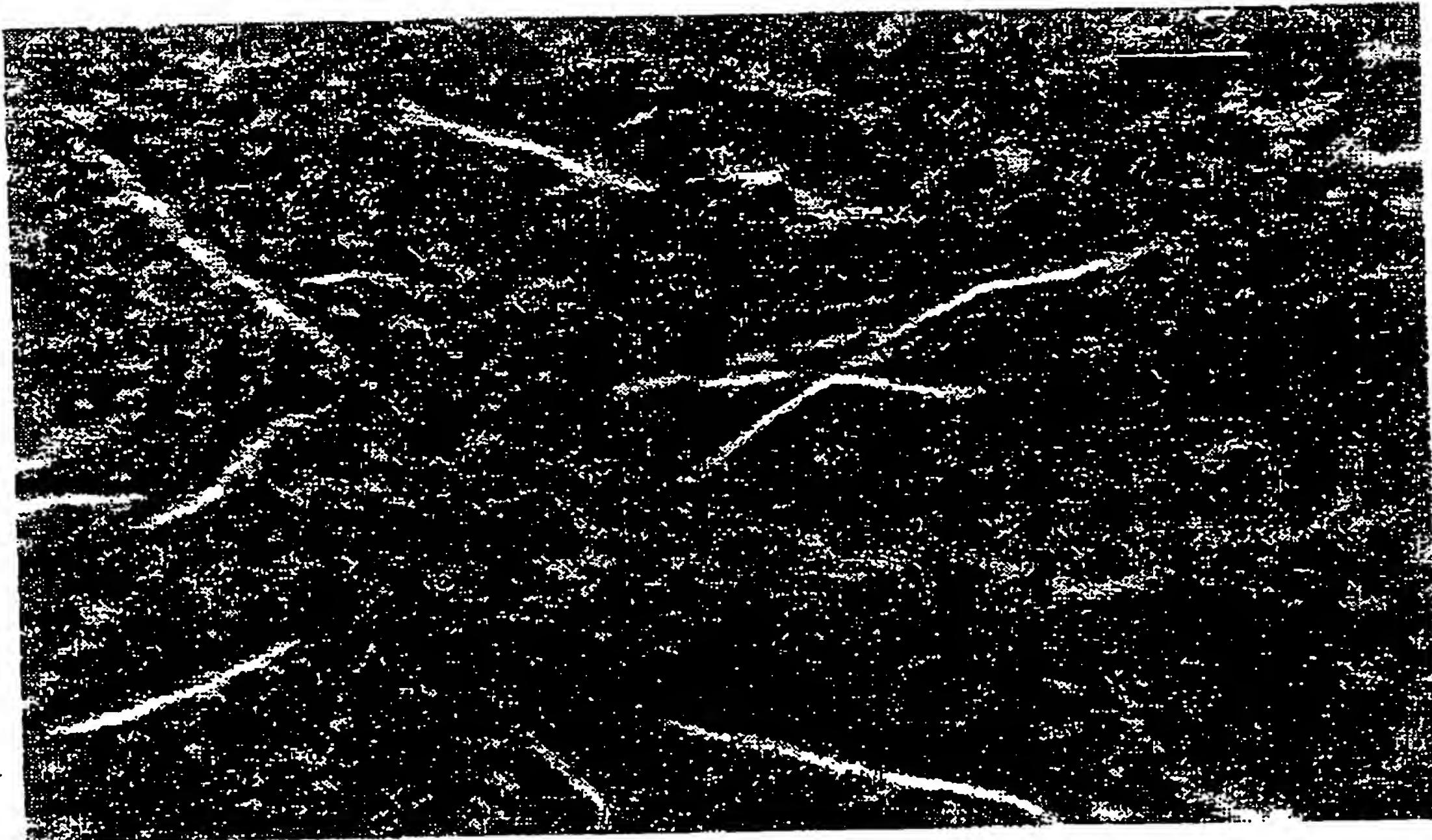
Stabilität: hoch

Oberflächenbeschichtung: PEG (MW = 3400), über NHS-Ester an terminale Aminogruppen des Ktenats gebunden

Liganden: über Vinylsulfon an distale Enden des PEG gebunden;  
z. B. BSA, IgG *Bild* und Antikörperfragmente, Transferrin...

Beladung: z. B. Alkaloide, Daunomycin...

Abbildung 4.

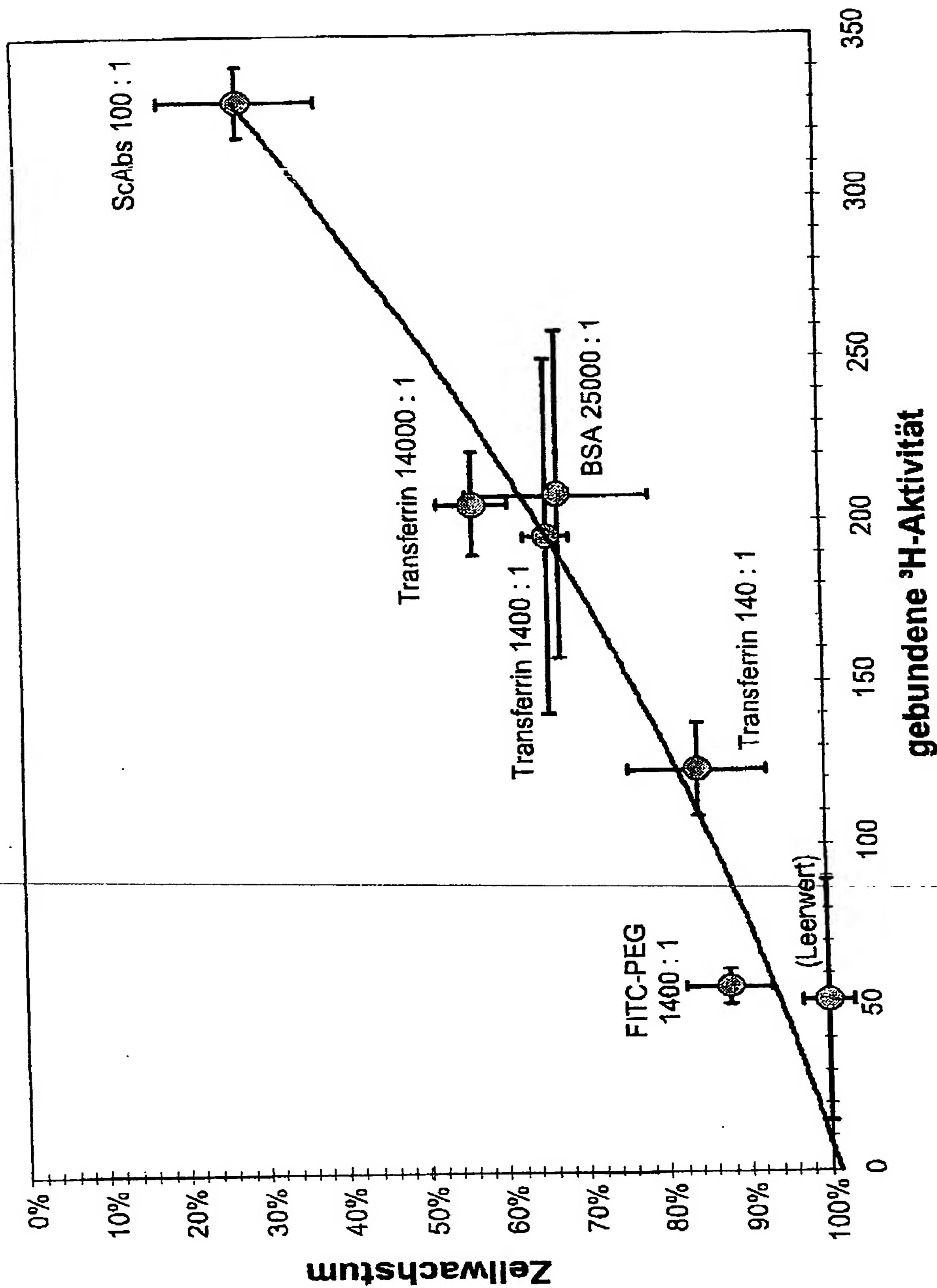


Balken=1  $\mu$ m.



Balken=10  $\mu$ m.

Abbildung 5.



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**